



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS
ALIMENTOS**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO PROTETOR DA MATRIZ DE
QUEIJO TIPO MASCARPONE ADICIONADO DE
Bifidobacterium BB-12**

MESTRANDA

Júlia dos Santos Opuski de Almeida

ORIENTADORA

Profa. Dra. Renata Dias de Mello Castanho Amboni

**Florianópolis
2016**

Júlia dos Santos Opuski de Almeida

**AVALIAÇÃO DO EFEITO PROTETOR DA MATRIZ DE
QUEIJO TIPO MASCARPONE ADICIONADO DE
Bifidobacterium BB-12**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de mestre em Ciência dos Alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Renata Dias de Mello Castanho Amboni

Florianópolis
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Almeida, Júlia dos Santos Opuski de

Avaliação do efeito protetor da matriz de queijo tipo mascarpone adicionado de Bifidobacterium BB-12 / Júlia dos Santos Opuski de Almeida ; orientadora, Profa. Dra. Renata Dias de Mello Castanho Amboni - Florianópolis, SC, 2016.

90 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos.

Inclui referências

1. Ciência dos Alimentos. 2. Queijo fresco; prebiótico. 3. probiótico. 4. Bifidobacterium BB-12. 5. simulação gastrointestinal in vitro. I. Amboni, Profa. Dra. Renata Dias de Mello Castanho . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. III. Título.

Júlia dos Santos Opuski de Almeida

**AValiação DO EFEITO PROTETOR DA MATRIZ DE
QUEIJO TIPO MASCARPONE ADICIONADO DE
Bifidobacterium BB-12**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Ciência dos Alimentos, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos.

Florianópolis, __ de março de 2016.

Prof.^a Roseane Fett, Dr.^a
Coordenadora do Programa

Banca Examinadora:

Prof.^a Renata Dias de Mello Castanho Amboni, Dr.^a
Orientadora – UFSC

Prof.^a Carmen Maria Olivera Müller, Dr.^a
UFSC

Prof.^a Elane Schwinden Prudêncio, Dr.^a
UFSC

Prof.^a Neila Silvia Pereira dos Santos Richards, Dr.^a
UFSM

*Dedico este trabalho aos meus pais,
Ilda e Jorge (in memoriam).*

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por toda proteção, força e inspiração durante todo este percurso.

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Renata Dias de Mello Castanho Amboni pela oportunidade de realizar o Mestrado sob sua orientação, pelo incentivo e pela paciência durante a execução deste trabalho.

À professora Prof.^a Dr.^a Elane Schwinden Prudêncio, por todas as sugestões e colaboração no trabalho, que foram de grande valia.

À Prof.^a Dr.^a Edna Regina e ao seu grupo de pesquisa, por conceder o espaço físico do Laboratório de Frutas e Hortaliças para a realização de algumas análises.

À Prof.^a Dr.^a Carmen Maria Olivera Müller pelas ideias e pelo auxílio na análise instrumental de textura.

À Prof.^a Dr.^a Cleide Rosana Werneck Vieira e ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos, pelo auxílio na realização da análise de simulação gastrointestinal *in vitro*.

À toda minha família, em especial à minha mãe, por toda a força e motivação à mim concedidas, e principalmente por sempre acreditar em mim.

À todo o grupo de pesquisa do Laboratório de Leite e Derivados por todo apoio, parceria e momentos felizes durante esses dois anos. Em especial, à Carolinne, pelo auxílio nos experimentos, e principalmente, pela grande amizade, uma das coisas mais especiais que este Mestrado me proporcionou.

À banca, por aceitar o convite para participar da defesa e pela colaboração com este trabalho.

À Universidade Federal de Santa Catarina e ao Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, pela oportunidade de realização do Mestrado.

À todos professores, pelo imenso aprendizado, e aos funcionários e colegas do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

À CAPES e ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos e pelo apoio financeiro.

À todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muitíssimo obrigada!

*“Eu pensava que nós seguíamos caminhos já feitos,
mas parece que não os há. O nosso ir faz o caminho.”*

C.S. Lewis

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito protetor da matriz de queijo tipo Mascarpone adicionado de *Bifidobacterium* BB-12 e inulina. Três diferentes formulações foram elaboradas, M1 – queijo sem adição de cultura probiótica, M2 – queijo adicionado de bifidobactéria e M3 – queijo adicionado de bifidobactéria e inulina. Foram realizadas contagens de células viáveis das amostras M2 e M3 e análises físico-químicas, de cor e de textura de todas as amostras de queijo nos dias 1 e 30 de armazenamento sob refrigeração (5 ± 1 °C). Os queijos inoculados de cultura probiótica foram submetidos às condições de simulação gastrointestinal *in vitro* (boca, esôfago-estômago, duodeno e íleo) para verificar a influência da matriz do queijo sobre a taxa de sobrevivência das bifidobactérias. A contagem de células viáveis de *Bifidobacterium* BB-12 no queijo M2 foi de 8,09 log UFC/g no dia 1 e 7,57 log UFC/g no dia 30, enquanto para a amostra M3 estes valores foram de 8,83 log UFC/g no dia 1 e 7,94 log UFC/g no dia 30; ao final do tempo de estocagem, as amostras inoculadas foram classificadas como probióticas. Os parâmetros físico-químicos não apresentaram diferenças significativas ($P > 0,05$) durante a estocagem das amostras M1, M2 e M3. As amostras apresentaram diminuição ($P < 0,05$) nos valores de pH durante o armazenamento, corroborando para uma menor interação proteína-água, com consequente exsudação de soro. Foi observada uma diminuição ($P < 0,05$) da capacidade de retenção de água e aumento da firmeza e adesividade ($P < 0,05$) para todas as amostras de queijo. Os queijos apresentaram alta luminosidade (L^*) com um aumento ($P < 0,05$) da tendência à coloração amarela (b^*) após 30 dias de estocagem. O efeito protetor da matriz do queijo tipo Mascarpone sobre a bactéria *Bifidobacterium* BB-12 foi comprovado, uma vez que a contagem de células viáveis de bifidobactéria retornou aos valores iniciais ($P > 0,05$) após a simulação gastrointestinal *in vitro*. Desta forma, o queijo tipo Mascarpone demonstrou ser um efetivo e promissor carreador desta bactéria probiótica.

Palavras-chave: Queijo fresco; prebiótico; probiótico; *Bifidobacterium* BB-12; simulação gastrointestinal *in vitro*.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the protective effect of the Mascarpone cheese matrix added with *Bifidobacterium* BB-12 and inulin. Three different formulations were produced, where: M1 - cheese without addition of probiotic culture, M2 - cheese added bifidobacteria and M3 - cheese added bifidobacteria and inulin. Viable cell counts and physical-chemical analysis, color and texture of the cheese samples were performed on days 1 and 30 of storage (5 ± 1 °C). Cheeses inoculated with probiotic culture were subjected to the *in vitro* gastrointestinal simulation (mouth, esophagus-stomach, duodenum and ileum) to verify the influence of the cheese matrix on the survival rates of the bifidobacteria. The viable cell counts of *Bifidobacterium* BB-12 in M2 sample was $8.09 \log \text{CFU g}^{-1}$ on day 1 and $7.57 \log \text{CFU g}^{-1}$ on day 30, while for the M3 sample was $8.83 \log \text{CFU g}^{-1}$ on day 1 and $7.94 \log \text{CFU g}^{-1}$ on day 30. At the end of the storage time, the inoculated samples were classified as probiotic. The physical-chemical parameters showed no significant differences ($P > 0.05$) during storage for the M1 sample, M2 and M3. All samples showed a decrease ($P < 0.05$) in pH values during storage, resulting in a smaller protein-water interaction, with resultant whey exudation. A decrease ($P < 0.05$) was observed in water holding capacity as well as an increase ($P < 0.05$) were observed in firmness and stickiness for all cheeses samples. The cheeses shown high luminosity (L^*) with an increase ($P < 0.05$) to the tendency to yellow (b^*) after 30 days of storage. The protective effect of Mascarpone cheese matrix on the *Bifidobacterium* BB-12 bacteria was confirmed, since the viable cells count of bifidobacteria returned to initial values ($P > 0.05$) after the gastrointestinal simulation. Thus, the Mascarpone cheese proved to be a effective and promising carrier of this probiotic bacteria.

Keywords: Queijo fresco; prebiótico; probiótico; *Bifidobacterium* BB-12; simulação gastrointestinal *in vitro*.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1 - Estrutura química da inulina. 35

Figura 2 - Curva padrão para determinação dos parâmetros de Análise Instrumental de Perfil de Textura (TPA) obtida pela plotagem da força pelo tempo através de dois ciclos de penetração, onde o pico 2 é a firmeza, coesividade = área 2/área 1; elasticidade = relação entre tempo decorrido nos pontos 4:5 e 1:2; adesividade = área 3. 41

Capítulo 2

Figura 1 - Fluxograma do processo de fabricação do queijo tipo Mascarpone. 57

Figura 2 - Contagem de células viáveis (média \pm desvio padrão) de *Bifidobacterium* BB-12, após cada etapa das condições gastrointestinais simuladas para: (a) C3 - amostra de queijo adicionado de bifidobactéria não exposto às condições gastrointestinais simuladas (\square) e C5 - amostra de queijo adicionado de bifidobactéria exposto às condições gastrointestinais simuladas (\blacksquare); (b) C4 - amostra de queijo adicionado de bifidobactéria e inulina não exposto às condições gastrointestinais simuladas (\square) e C6 - amostra de queijo adicionado de bifidobactéria e inulina exposto às condições gastrointestinais simuladas (\blacksquare); e (c) B2 - caldo MRS inoculado com bifidobactéria não exposto às condições gastrointestinais simuladas (\square) e B3 - caldo MRS inoculado com bifidobactéria exposto às condições gastrointestinais simuladas (\blacksquare). 72

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1 - Variação da composição química média do leite de vaca. 27

Tabela 2 - Composição química do queijo tipo Mascarpone, de acordo com a literatura. 30

Capítulo 2

Tabela 1 - Contagem de células viáveis de *Bifidobacterium* BB-12 (log UFC/g) nas amostras M2 e M3 de queijo tipo Mascarpone durante 30 dias de armazenamento a 5 °C. Valores médios \pm desvio padrão. 65

Tabela 2- Rendimento e composição físico-química das amostras de queijo tipo Mascarpone durante 30 dias de armazenamento a 5 °C. Resultados expressos como média \pm desvio-padrão. 66

Tabela 3 - Acidez titulável (% ácido láctico), pH e capacidade de retenção de água (CRA) (% m/m) das amostras de queijo tipo Mascarpone durante 30 dias de armazenamento a 5 °C. Valores médios \pm desvio padrão. 68

Tabela 4 - Perfil de textura das amostras de queijo tipo Mascarpone durante 30 dias de armazenamento a 5 °C. Resultados expressos como média \pm desvio-padrão. 70

Tabela 5 - Parâmetros de cor das amostras de queijo tipo Mascarpone. 71

Tabela 6 - Taxa de sobrevivência (%) de *Bifidobacterium* BB-12 nas amostras de queijo tipo Mascarpone (C5 e C6) e no caldo MRS (B3) após cada etapa das condições gastrointestinais simuladas. 73

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
REFERÊNCIAS	25
CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
1.1 LEITE	27
1.2 QUEIJOS	28
1.3 PROBIÓTICOS	31
1.4 PREBIÓTICOS	33
1.5 APLICAÇÃO DE <i>bifidobacterium</i> BB-12 EM QUEIJOS	37
1.6 SOBREVIVÊNCIA DE BIFIDOBACTÉRIAS À PASSAGEM PELO TRATO GASTROINTESTINAL	38
1.7 CARACTERIZAÇÃO DE QUEIJOS	39
REFERÊNCIAS	42
CAPÍTULO 2 - CARACTERIZAÇÃO E SIMULAÇÃO GASTROINTESTINAL <i>IN VITRO</i> DE QUEIJO TIPO MASCARPONE ADICIONADO DE INULINA E <i>bifidobacterium</i> BB-12	51
RESUMO	51
ABSTRACT	52
1 INTRODUÇÃO	53
2 MATERIAL E MÉTODOS	55
2.1 MATERIAL	55
2.2 ELABORAÇÃO DE QUEIJO TIPO MASCARPONE	55
2.3 RENDIMENTO	58
2.4 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	58
2.5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	58
2.5.1 Capacidade de retenção de água	59
2.6 ANÁLISE INSTRUMENTAL DE TEXTURA	59
2.7 ANÁLISE DE COR	59
2.8 SOBREVIVÊNCIA DE <i>bifidobacterium</i> BB-12 EM SIMULAÇÃO GASTROINTESTINAL <i>IN VITRO</i>	60
2.8.1 Preparação das amostras de queijo	60

2.8.2 Preparação do caldo MRS	60
2.8.3 Condições gastrointestinais simuladas	61
2.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	62
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
3.1 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	63
3.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	65
3.3 ANÁLISE INSTRUMENTAL DE TEXTURA	68
3.4 ANÁLISE DE COR	70
3.5 SIMULAÇÃO GASTROINTESTINAL <i>IN VITRO</i>	72
4 CONCLUSÕES	79
REFERÊNCIAS	81
ANEXOS	89
ANEXO A– TRABALHOS APRESENTADOS EM EVENTOS	89

1 INTRODUÇÃO

Diversos são os produtos lácteos em destaque na área de alimentos com alegações funcionais, principalmente no âmbito de alimentos probióticos. Culturas probióticas já foram incorporadas com sucesso em leites, iogurtes, leites fermentados, sobremesas e diversos tipos de queijos (ARAGON-ALEGRO et al., 2007; SAARELA et al., 2006), como os queijos cremosos (BURITI; CARDARELI; SAAD, 2007) e os queijos frescos (BURITI et al., 2005; VINDEROLA et al., 2000).

Queijos frescos são aqueles que logo após o seu fabrico estão aptos ao consumo, não sofrendo processo de maturação. Entre os queijos frescos, destacam-se o queijo tipo Minas frescal, ricota, cottage e quark; e entre queijos frescos cremosos, destacam-se o *cream cheese* e o creme de ricota. Queijos frescos são considerados bons veículos para adição de probióticos, uma vez que apresentam condições adequadas de oxigênio e pH (BRASIL, 1996; OLIVEIRA, 1990).

De forma a atender as exigências de diversos públicos, a diversificação de produtos oferecidos é uma grande tendência na indústria, visando o desenvolvimento de novos produtos probióticos. Dentre os queijos frescos existentes no mercado que apresentam um grande potencial para a incorporação de probióticos, encontra-se o queijo tipo Mascarpone.

O queijo tipo Mascarpone possui características próprias, é cremoso, de sabor muito suave, doce e ligeiramente ácido, de coloração que pode variar entre branco e levemente amarelado (VAN DENDER, 1988). É muito apreciado pelos consumidores pelos aspectos peculiares de textura e sabor, e é muito utilizado como matéria-prima de produtos nobres, como a sobremesa “*tiramisù*”. É produzido através da acidificação à quente do creme de leite, e sua tecnologia de fabricação é relativamente simples e barata. É um queijo que não sofre processo de maturação, apresenta pH levemente ácido e possui um alto teor de gordura (BOYLSTON et al., 2004). Devido, principalmente, à esta última característica, apresenta-se como uma matriz capaz de garantir a sobrevivência e a manutenção de bactérias probióticas ao longo do processamento e estocagem, e também de oferecer uma proteção eficaz durante a passagem pelo trato gastrointestinal.

Para que bactérias probióticas sejam adicionadas com sucesso em alimentos e exerçam os efeitos benéficos inerentes ao seu consumo, é preciso que a contagem de células viáveis no alimento pronto esteja entre 6 e 7 log Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por g ou mL do

produto. Assim, o consumo de 100 g de produto contendo de 8 a 9 log UFC de bactéria probiótica fornecerá a dose diária recomendada para que se tenham os benefícios esperados das alegações funcionais (BOYLSTON et al., 2004; SHAH, 2011).

A viabilidade da bactéria adicionada em produtos lácteos pode ser melhorada com a associação de ingredientes prebióticos, que atuam em simbiose com os micro-organismos. Prebióticos, tais como a inulina, são componentes alimentares não digeríveis que afetam de forma benéfica o hospedeiro ao estimular seletivamente a proliferação de bactérias desejáveis no cólon (ZIEMER; GIBSON, 1998).

Diversos trabalhos relataram a eficácia da adição de culturas probióticas em queijos frescos (FRITZEN-FREIRE et al., 2013) e da associação de culturas probióticas e inulina incorporadas em queijos frescos cremosos (BURITI et al., 2007). Estes autores obtiveram resultados satisfatórios com relação à manutenção da viabilidade do micro-organismo durante o armazenamento.

Com isso, existem boas perspectivas para o desenvolvimento de um produto com caráter inovador e de alto valor agregado – o queijo tipo Mascarpone adicionado de bifidobactéria e inulina. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo desenvolver um queijo tipo Mascarpone incorporado da cultura probiótica *Bifidobacterium* BB-12 e de inulina, e avaliar o efeito da adição de ambos nas propriedades físico-químicas, de cor e de textura do produto. Também objetivou-se verificar a viabilidade da bactéria probiótica na matriz do queijo durante a estocagem sob refrigeração (5 ± 1 °C) e, finalmente, avaliar a capacidade de proteção da matriz do queijo tipo Mascarpone em relação à sobrevivência das bifidobactérias em condições gastrointestinais simuladas *in vitro*.

A fim de abordar todos os aspectos supracitados, este trabalho está dividido nos seguintes capítulos:

- a) capítulo 1, referente à revisão bibliográfica, onde são abordados os principais temas estudados neste trabalho;
- b) capítulo 2, referente ao estudo das propriedades físico-químicas, de cor e de textura de queijo tipo Mascarpone adicionado de *Bifidobacterium* BB-12 e inulina, e a viabilidade da adição da bifidobactéria nos dias 1 e 30 de armazenamento em temperatura de refrigeração (5 ± 1 °C); bem como à avaliação do efeito protetor do queijo sobre as bifidobactérias em condições gastrointestinais simuladas *in vitro*.

REFERÊNCIAS

ARAGON-ALEGRO, L. C. et al. Probiotic and symbiotic chocolate mousse. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, p. 669–675, 2007.

BOYLSTON, et al. Incorporation of bifidobacteria into cheeses: Challenges and rewards. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 375–387, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146 de 7 março de 1996. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**, 11 de março de 1996.

BURITI, F.C.A. et al. Probiotic potential of Minas fresh cheese prepared with the addition of *Lactobacillus paracasei*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 38, p. 173–180, 2005.

BURITI, F.C.A.; CARDARELLI, H.R.; SAAD, S.M.I. Biopreservation by *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophilus* in potentially probiotic and symbiotic fresh cream–cheeses. **Journal of Food Protection**, v. 70, p. 228–235, 2007.

BURITI, F.C.A. et al. Symbiotic potential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. **Food Chemistry**, v. 104, p. 1605–1610, 2007.

FRITZEN-FREIRE, C. B. et al. Effect of the application of *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulated by spray drying with prebiotics on the properties of ricotta cream. **Food Research International**, v. 52, n. 1, p. 50–55, 2013.

OLIVEIRA, J. S. **Queijo: fundamentos tecnológicos**. 2 ed. São Paulo: Ícone, 1990.

SAARELA, M., et al. Stability and functionality of freeze-dried probiotic *Bifidobacterium* cells during storage in juice and milk. **International Dairy Journal**, v. 16, p. 1477–1482, 2006.

SHAH, N. P. *Bifidobacterium* spp.: Applications in Fermented Milks. In: FUQUAY, J. W.; FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. (Eds.), **Encyclopedia of Dairy Sciences**, Academic Press, San Diego, California, 2011. pp. 685–697.

VINDEROLA, C. G., et al. Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and nonprobiotic microflora in Argentinian fresco cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1905–1911, 2000.

ZIEMER, C. J.; GIBSON, G. R. An overview of probiotics, prebiotics and symbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. **International Dairy Journal**, v. 8, p. 473–479, 1998.

CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 LEITE

O leite é o produto oriundo da secreção das glândulas mamárias de fêmeas leiteiras. Do ponto de vista físico-químico, é uma mistura homogênea de diferentes substâncias, dentre as quais algumas se encontram na forma de emulsão (gordura), algumas em suspensão (caseínas associadas aos sais minerais) e outras em dissolução verdadeira (lactose, proteínas do soro, vitaminas hidrossolúveis, entre outros) (ORDÓÑEZ et al., 2005). Entretanto, a composição química do leite (Tabela 1) pode sofrer variações, dependendo da espécie do animal, raça, idade, número de parições, tempo de lactação, variações climáticas, entre outros (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Tabela 1 - Variação da composição química média do leite de vaca.

Componentes	Teor (% m/m)	Variação (% m/m)
Água	86,60	85,50 – 88,70
Gordura	4,10	2,40 – 5,50
Proteínas	3,60	2,30 – 4,40
Lactose	5,00	3,80 – 5,30
Sais minerais	0,70	0,53 – 0,80

Fonte: Damodaran, Parkin e Fennema (2010).

As principais proteínas do leite são as caseínas e as proteínas do soro. As caseínas são proteínas globulares que representam cerca de 80% do teor proteico do leite, e são representadas pelas frações α , β , γ e κ -caseína. Já as proteínas do soro, representam 20% da porção proteica total do leite, sendo compostas por aproximadamente 9,5% de β -lactoglobulina e 3,5% de α -lactoalbumina. O restante é constituído por outras proteínas, como por exemplo, as enzimas, as imunoglobulinas e os hormônios (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). As enzimas do leite, apesar de serem encontradas em baixas concentrações, são representadas principalmente pelas lipases, proteases, fosfatases, oxidades, catalase, sulfidroxilase e transferases (ORDÓÑEZ et al., 2005).

A gordura do leite é caracterizada como uma mistura riquíssima de triglicerídeos que contém mais de 17 ácidos graxos, vitaminas, fosfolipídios, em combinação com glicerol. Representando cerca de 96 a 98% do total de lipídios do leite, os triglicerídeos encontram-se na forma de glóbulos esféricos com diâmetro variando entre 2 e 10 μm . O

mais representativo ácido graxo é o oleico (que atua reduzindo a formação de placas de gordura no sangue), linoleico (que reduz os níveis séricos de LDL-colesterol) e outros ácidos graxos de cadeia mais curta (butírico e capríco), que são responsáveis pelo ponto de fusão relativamente baixo da gordura do leite (TRONCO, 1996; FUENTES, 1998).

A lactose, o principal açúcar do leite, é um dissacarídeo formado por resíduos de glicose e galactose unidos por ligação glicosídica β 1-4. Apresenta gosto doce fraco e poder edulcorante cerca de seis vezes menor que o da sacarose. Sua presença no leite contribui para a melhor absorção de minerais e estimula o crescimento da microbiota desejável no intestino (TEIXEIRA; BASTIANETTO; OLIVEIRA, 2002).

O leite ainda contém vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K) e vitaminas hidrossolúveis, como a vitamina C e do complexo B, como por exemplo, ácido pantotênico (B5), niacina (B3), biotina (B8) e ácido fólico (B9). Além disso, o leite possui carotenoides precursores de vitamina A, e também de riboflavina. Estes componentes são responsáveis pela coloração amarelada e esverdeada do leite, respectivamente (ORDÓÑEZ et al., 2005). Quase totalmente em dissolução, os sais são outros componentes de importância no leite. Estes são representados em maiores quantidades pelo cálcio, sódio, potássio, magnésio, cloro, fosfatos, sulfatos, carbonatos (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

O leite está entre os produtos mais importantes para a agropecuária brasileira desempenhando um importante papel como alimento e fonte de renda. Por ser uma matéria-prima com excelentes propriedades nutricionais e tecnológicas, é utilizado na produção de derivados de grande aceitabilidade (BURITI; ROCHA; SAAD, 2005).

1.2 QUEIJOS

Por definição no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (BRASIL, 1996), “queijo é o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, enzimas/bactérias específicas, ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar”. A denominação queijo está reservada aos produtos em que a base láctea não contenha gordura e/ou proteínas de origem não láctea.

De acordo com o teor de matéria gorda no extrato seco, os queijos podem ser classificados como desnatados (com menos de 10% de gordura), magros (entre 10 e 24,9%), semigordos (entre 25 e 49,9%), gordos (entre 50 e 59,9%) e extragordos ou duplo creme, com mínimo de 60% de gordura (BRASIL, 1996). Os queijos são também classificados quanto a sua maturação; quando maturados caracterizam-se por produtos que sofreram alterações físicas e bioquímicas necessárias para a obtenção de suas características próprias.

Queijos frescos não passam por este processo e estão aptos para consumo logo após o seu fabrico (BRASIL, 1996). Queijos frescos cremosos podem ser obtidos por fermentação ou acidificação direta de leite ou creme de leite, variando a composição lipídica do queijo (HARBUTT; DENNY, 1999). Em geral, possuem sabor suave, o que os tornam versáteis para o consumo, como acompanhamento ou incorporados em diversos tipos de preparações. São muito apreciados pelo seu sabor, textura e características diferenciadas. Entre os queijos frescos, destacam-se o queijo Minas frescal, ricota, cottage e quark; e entre os queijos frescos cremosos destacam-se o *cream cheese* e o queijo tipo Mascarpone, que apresentam uma massa cremosa, de textura macia e frágil, com boa espalhabilidade, alta atividade de água e um tempo reduzido de vida útil (OLIVEIRA, 1990). A produção de queijo tipo Mascarpone no Brasil ainda é muito pequena, e a Legislação brasileira atual não dispõe de padrões de Identidade e Qualidade específicos para este tipo de queijo.

O queijo Mascarpone, ou *Mascherpone*, é um produto italiano originário da Lombardia, na Itália, particularmente da região de Lodi. Sua origem não é totalmente conhecida, embora sua produção e seu consumo já são datados desde o século XII. Hoje é um produto produzido em várias áreas da Itália. Seu nome possui três possíveis origens. A primeira das hipóteses acredita que o nome "Mascarpone" veio da expressão "*mas que bueno*" ("mais do que bom"), utilizada no ano de 1.200 por um nobre espanhol, quando provou pela primeira vez o queijo Mascarpone. Outra hipótese é que o Mascarpone tem sua origem da palavra "mascherpa" ou "mascarpia", que no dialeto local significa ricota, devido aos processos de fabricação da ricota e do Mascarpone serem muito semelhantes. E, por último, uma terceira hipótese, é de que o nome se origina da palavra "*mascarpa*", um produto de leite feito a partir do soro de leite de queijo curado (SACCHI et al., 2003).

O queijo tipo Mascarpone é considerado um queijo nobre e a sua textura é suave, cremosa, densa e homogênea, e possui uma cor que varia desde o branco leitoso até o amarelo pálido. Apresenta sabor e

aroma delicado, doce e amanteigado, que lembra o próprio creme de leite (VAN DENDER, 1988). Ele é conhecido como o principal ingrediente da sobremesa *tiramisù*, servida em restaurantes de todo o mundo. O uso deste tipo de queijo na Itália é muito amplo, uma vez que é um produto com altíssimo valor agregado, que enriquece a gastronomia e acrescenta cremosidade e delicadeza às preparações (SACCHI et al., 2003).

A tecnologia de produção do queijo tipo Mascarpone é relativamente simples e barata, sendo bastante adequada para produção artesanal ou em indústria de pequeno porte. A matéria-prima tradicionalmente utilizada é o creme de leite bovino com teor de gordura de 25 a 35%, obtido por desnatamento e sem adição de conservantes. Ao contrário da maioria dos queijos italianos, que são feitos pela adição de coalho ao leite, o queijo Mascarpone é produzido através da coagulação termo-ácida de creme de leite, isto é, através da adição de ácido cítrico ou ácido tartárico a uma temperatura aproximada de 90 °C por 5 ou 10 minutos. Por ser um produto obtido através da coagulação da caseína presente, é classificado como queijo e não apenas como um produto lácteo. Sua mudança estrutural após a acidificação o torna mais compacto e um creme consistente (VAN DENDER, 1988). A acidificação direta a quente do creme de leite, ao contrário do uso dos coalhos enzimáticos e fermento láctico, reduz o custo, o tempo de produção do queijo e elimina a manutenção das culturas lácticas (SHUKLA; LADKANI, 1989).

No processo tradicional de fabricação do queijo tipo Mascarpone, o rendimento está relacionado com o teor de gordura do creme utilizado. A composição química, de acordo com a literatura, encontra-se na Tabela 2.

Tabela 2 - Composição química do queijo tipo Mascarpone, de acordo com a literatura.

Composição	Umidade	Gordura	Proteínas	Lactose	Cinzas
Autores	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Androuet (1984)	—	47	—	—	—
Battistotti et al. (1985)	45 – 50	45 – 55	7 – 8	2 – 3	—
Courtine (1973)	—	—	—	—	—
Delforno (1981)	48,22	44,01	6,84	—	3,88
Resmini (1984)	44 – 50	46 – 49	3 – 5	2 – 3	—
Savini (1950)	44 – 50	45 – 55	7 – 8	—	0,5 – 0,7

Fonte: VAN DENDER (1988).

Poucos trabalhos referentes ao queijo tipo Mascarpone são encontrados na literatura. Desta forma, a realização de um estudo com relação à sua caracterização físico-química, de cor e de textura é interessante. Devido a sua composição, este queijo pode se apresentar como uma matriz favorável à incorporação de componentes benéficos à saúde em sua formulação, tais como culturas probióticas e prebióticos, possibilitando o desenvolvimento de um produto inovador. Além disso, devido à facilidade na sua produção e o baixo custo de manufatura, se torna altamente rentável, pelo fato de ser um produto novo, de alto valor agregado e com características probióticas.

1.3 PROBIÓTICOS

A microbiota intestinal é constituída por uma variedade de bactérias aeróbias e anaeróbias que interagem entre si em um ecossistema complexo e dinâmico capaz de influenciar os fatores microbiológicos, imunológicos e bioquímicos do hospedeiro. Ela apresenta um número considerável de espécies bacterianas, incluindo principalmente as bactérias anaeróbias, onde se destacam as bifidobactérias e os lactobacilos (MONREAL; PEREIRA; LOPES, 2005). A partir do conhecimento da microbiota intestinal e suas interações com o hospedeiro, é possível desenvolver estratégias alimentares que objetivem a manutenção das bactérias normalmente presentes no cólon (GIBSON; FULLER, 2000). A administração de micro-organismos probióticos permite corrigir o desbalanceamento ocasional da microbiota autóctone (ISOLAURI; SALMINEN; OUWEHAND, 2004).

Probióticos são micro-organismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas e em doses diárias conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2006). Para um micro-organismo ser classificado como probiótico, além de promover efeito benéfico à saúde, este não deve demonstrar patogenicidade ou toxicidade; deve ser Gram-positivo; ser de fácil proliferação *in vitro*; produzir ácidos e ser resistente a ambientes dessa natureza; ser específico ao hospedeiro; conter um determinado número de células viáveis; permanecer viável durante processamento e estocagem; ser geneticamente estável; resistir à ação da bile e lisozima e colonizar o sistema intestinal humano, ao menos temporariamente, mediante mecanismos de adesão às células intestinais (GIBSON; FULLER, 2000; BENGMARK, 2000).

Dentre os efeitos benéficos associados à ingestão de probióticos, destacam-se o equilíbrio da microbiota intestinal, uma vez que, quando em equilíbrio, impede que micro-organismos patógenos exerçam seus efeitos patogênicos através da competição por sítios de adesão, competição por nutrientes e produção de compostos antimicrobianos, como ácidos (lático e acético) e bacteriocinas (KOPP-HOOLIHAN, 2001; CALDER; KEW, 2002, GUARNER; MALAGELADA, 2003). Além disso, a ingestão de probióticos auxilia na redução da incidência de diarreia; o aumento da digestão da lactose (devido à presença da enzima β -D-galactosidase); melhoria do sistema imunológico; tratamento e prevenção de alergias; atividade antitumoral e anticarcinogênica; redução do colesterol sanguíneo; aumento da absorção de cálcio, síntese de vitaminas (principalmente do complexo B e folato) e pré-digestão de proteínas (POHJAVUORI et al., 2004; VANDERHOOF; YOUNG, 2003; GORBACH, 2000).

Os micro-organismos comumente descritos como probióticos são aqueles produtores de ácido lático, particularmente dos gêneros originários do intestino humano, tais como *Bifidobacterium* (*B. longum*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. animalis*), *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. reuteri*) e *Streptococcus*, ou *Enterococcus*; na forma de culturas simples ou mistas usualmente adicionadas em produtos lácteos fermentados (ROKKA; RANTAMÄKI, 2010).

Bactérias do gênero *Bifidobacterium ssp.* são muito utilizadas pela indústria. Apresentam-se na forma de bastonetes Gram-positivos, sem motilidade, não produzem esporos e são estritamente anaeróbias, embora algumas espécies sejam tolerantes ao O₂ na presença de CO₂. A temperatura ótima de multiplicação dessas bactérias está na faixa de 37 a 41°C, podendo se multiplicar entre 25 e 45°C (PRASANNA; GRANDISON; CHARALAMPOPOULOS, 2014). Possuem capacidade de modulação da microbiota intestinal, pela capacidade em aderir e interagir com células epiteliais do intestino; além disso, apresentam resistência ao pH baixo e aos ácidos biliares em testes *in vitro* (PRASAD et al., 1999). Possuem capacidade de fermentar seletivamente os frutanos, preferencialmente à outras fontes de carboidratos, como pectina, amido ou polidextrose. A alta especificidade de inulina como substrato para bifidobactérias resulta da atividade das enzimas β -frutosidases (inulinases) produzidas por estes micro-organismos, as quais hidrolisam monômeros de frutose da extremidade não-redutora da cadeia de inulina ou de determinados açúcares em que o resíduo de frutose ocorre na posição β (2-1) (BIEDRZYCKA; BIELECKA, 2004).

Para um alimento ser considerado probiótico, é necessário que este apresente estabilidade com relação à acidez gástrica e à bile, possua validade média considerada satisfatória, propriedades sensoriais aceitáveis e contagem de células viáveis probióticas maior do que 6 log UFC/mL ou g do produto. A necessidade de manter um número elevado de micro-organismos viáveis no produto final é devido à dose diária mínima recomendada, cerca de 8 a 9 log de células viáveis/mL, obtidas pelo consumo de 100 g de produto com 6 a 7 log/mL ou g UFC (BRASIL, 1999). Além disso, estes produtos devem ser consumidos regularmente para garantir o efeito dos micro-organismos na composição da microbiota intestinal (FARIA; BENEDET; GUERROUE, 2006).

Bactérias probióticas têm sido adicionadas com sucesso em produtos lácteos, em diversos tipos de queijos (VINDEROLA et al., 2009; BURNS et al., 2012), incluindo creme de ricota (FRITZEN-FREIRE et al., 2013), leites fermentados (PINTO et al., 2006; VINDEROLA; MATAR; PERDIGÓN, 2007), iogurtes (AL-SHERAJI et al., 2012) e *frozen* iogurte (PINTO et al., 2012).

1.4 PREBIÓTICOS

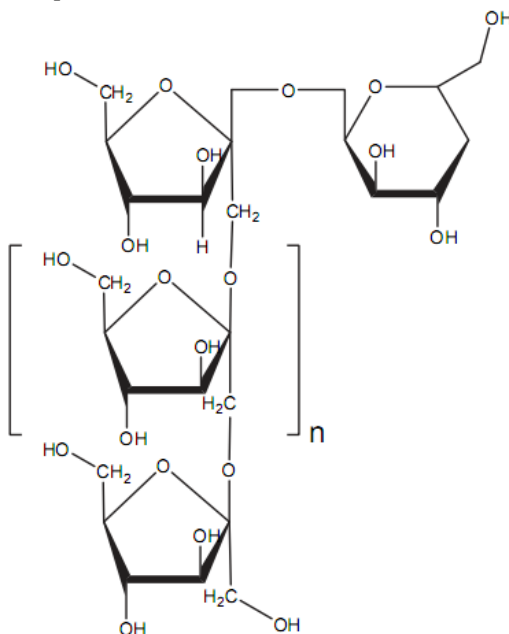
Prebióticos são definidos como ingredientes alimentares não digeríveis que estimulam seletivamente a multiplicação e/ou atividade de uma ou mais espécies de bactérias no cólon e, dessa forma, afetam benéficamente o hospedeiro (OLIVEIRA et al., 2002). Para um substrato ser classificado como prebiótico, ele não deve ser hidrolisado ou absorvido no estômago ou intestino delgado, e sim ser seletivamente fermentado por bactérias anaeróbicas do cólon, os quais compreendem principalmente bifidobactérias e lactobacilos (SALMINEN; KENIFEL; OUWEHAND, 2011).

Destacam-se como prebióticos as fibras alimentares solúveis e insolúveis, peptídeos, proteínas e alguns lipídios. Entre as fibras alimentares encontram-se os carboidratos não-digeríveis, resistentes à digestão e a absorção no intestino humano, com fermentação completa ou parcial no intestino grosso, promovendo efeitos fisiológicos complexos, tais como efeito laxativo e/ou redução dos níveis séricos de colesterol e glicose. São conhecidas como as partes não digeríveis do vegetal, tais como a celulose, hemicelulose, ligninas, gomas, pectinas, oligossacarídeos, pectinas, frutanos, tais como a inulina e oligofrutose (AACC, 2001).

Frutano é um termo genérico empregado para descrever todos os oligo ou polissacarídeos em que uma ou mais ligações frutossil-frutose predominam dentre as ligações glicosídicas. Portanto, de forma genérica, são polímeros de frutose (SAAD et al., 2011). Estes polímeros de frutose podem ser lineares ou ramificados ligados por ligações β (2 \rightarrow 1) ou β (2 \rightarrow 6), encontrados, respectivamente, na inulina e nos frutanos do tipo levanos (CARABIN; FLAMM, 1999).

Os frutanos do tipo inulina dividem-se em dois grupos gerais: a inulina e os compostos a ela relacionados – a oligofrutose e os fruto-oligossacarídeos (FOS) e são considerados como prebióticos modelos. A inulina é comumente obtida a partir da raiz de chicória; a oligofrutose, por sua vez, pode ser obtida a partir da hidrólise da inulina. O termo FOS tende a descrever misturas de frutanos do tipo inulina de cadeia curta sintetizados a partir da sacarose (BIEDRZYCKA; BIELECKA, 2004). A inulina, a oligofrutose e os FOS são quimicamente similares, com as mesmas propriedades nutricionais. Essas semelhanças química e nutricional são consequentes à estrutura básica de unidades frutossil, bem como à sua via metabólica em comum. A única diferença entre a inulina, a oligofrutose e os FOS sintéticos é o grau de polimerização, ou seja, o número de unidades individuais de monossacarídeos que compõem a molécula (CARABIN; FLAMM, 1999). A inulina (Figura 1) possui um grau de polimerização entre 10 e 60, enquanto a oligofrutose um grau de polimerização entre 2 e 9 (BIEDRZYCKA; BIELECKA, 2004). A inulina de cadeia longa possui grau de polimerização médio de 23 monossacarídeos e é originada da inulina nativa através de técnicas específicas de separação (MEYER et al., 2011).

Figura 1 - Estrutura química da inulina.



Fonte: Damodaran; Parkin; Fennema, 2010.

De acordo com Kolida e Gibson (2011), o consumo de 5 a 8 g/dia de inulina confere efeito prebiótico em indivíduos adultos saudáveis. Diversos benefícios fisiológicos têm sido associados ao consumo de prebióticos, dentre eles: redução dos níveis de triglicerídeos e colesterol; controle da constipação, ao mesmo tempo prevenindo diarreias; redução do processo inflamatório; efeito anticarcinogênico; aumento da absorção de sais minerais, modulação do sistema imune e do metabolismo de lipídios. A adição de prebióticos na elaboração de produtos lácteos é justificada devido a sua alta funcionalidade (CAUSEY et al., 2000; NITSCHKE; UMBELINO, 2002).

Em função da sua estrutura química e por não serem absorvidos no intestino delgado, são fermentados rapidamente no intestino grosso e usados como fonte de energia por bactérias endógenas no cólon, preferencialmente pelas bifidobactérias, favorecendo o seu crescimento e sua atividade metabólica. A especificidade das bifidobactérias em utilizar os frutanos deve-se à produção de inulinase intracelular, enzima necessária para hidrolisar as ligações glicosídicas do tipo $\beta(2,1)$ entre as unidades de frutose. Os prebióticos não promovem a multiplicação de

patógenos, tais como clostrídios produtores de toxina ou *E. coli* toxigênica (ROBERFROID, 1999; NAZZARO et al., 2012).

O produto final obtido a partir da fermentação das fibras prebióticas são substratos como o ácido láctico e os ácidos graxos de cadeia curta (acetato, propionato e butirato), os quais podem desempenhar várias funções biológicas benéficas ao hospedeiro, dentre elas, a redução do pH no intestino, que aumenta a solubilidade de sais de cálcio e magnésio e favorece a absorção destes nutrientes (NAZZARO et al., 2012).

A administração conjunta de um probiótico com um prebiótico específico pode favorecer o desenvolvimento *in situ* dos probióticos, aumentando a sobrevivência e a implantação destes no trato gastrointestinal (ZIEMER; GIBSON, 1998). A definição de simbiótico sugere a ocorrência de uma ação sinérgica, na qual o probiótico é selecionado com base nos efeitos benéficos sobre o hospedeiro, enquanto o prebiótico é, normalmente, escolhido especificamente para estimular a multiplicação e a atividade do probiótico selecionado. Desta forma, o prebiótico pode aumentar as populações de micro-organismos benéficos ao hospedeiro, entretanto, o probiótico ingerido é o alvo principal (KOLIDA; GIBSON, 2011).

Além de estimular o equilíbrio da microbiota intestinal, a inulina desempenha propriedades tecnológicas nos alimentos, e pode também ser utilizada como agente espessante, emulsificante e gelificante. Quando em solução, a inulina forma um gel estável fisicamente devido à sua alta capacidade de ligação da água, em uma proporção de 2:1, ou seja, duas moléculas de água para cada molécula de inulina. O gel formado é constituído por partículas cristalinas de inulina, que são insolúveis em água e que interagem umas com as outras formando pequenos agregados. Estes agregados englobam uma grande quantidade de água e resultam em uma estrutura cremosa (MEYER et al., 2011, FRANCK et al., 2002).

Segundo Murphy (2001), já foi comprovado que a inulina é capaz de atuar como modificador de textura em produtos alimentícios, uma vez que pode substituir a gordura imobilizando a água durante a formação das partículas de gel. A disponibilidade de água é o fator que mais afeta as características do gel. Entretanto, o tamanho da cadeia de inulina (grau de polimerização), concentrações de mono e dissacarídeos presentes, tamanho das partículas de inulina, método de preparação, temperatura, adição de outros hidrocolóides e cátions mono e divalentes também podem afetar o gel. De acordo com Wada et al. (2005), quando a cadeia é longa (DP entre 23 e 25 unidades), o prebiótico é

termicamente mais estável do que os de cadeia curta (DP média de 11 unidades). A funcionalidade da inulina também está relacionada ao seu efeito sobre soluções aquosas com diferentes teores de sólidos. À medida que a concentração de inulina aumenta, a viscosidade aumenta gradativamente. Em baixas concentrações, a inulina causa um significativo aumento da viscosidade e pode ser utilizada como um modificador reológico, enquanto que em concentrações de 40-45% forma-se um gel firme de inulina, que confere ao produto a mesma sensação cremosa oferecida pelos lipídios.

1.5 APLICAÇÃO DE *bifidobacterium* BB-12 EM QUEIJOS

Diversos tipos de queijos já foram testados como veículos de cepas probióticas de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, tais como o queijo cheddar (MC BREARTY et al., 2001; PHILLIPS; KAILASAPATHY; TRAN, 2006), cottage (BLANCHETTE et al., 1996), crescenza (GOBBETTI et al., 1998), fresco argentino (MÉDICI; VINDEROLA; PERDIGÓN, 2004) e canestrato Pugliese (CORBO et al., 2001).

Queijos frescos, como por exemplo, o queijo tipo Minas frescal (FRITZEN-FREIRE et al., 2010) e queijos frescos cremosos (BURITI et al., 2007) se destacam entre os produtos lácteos estudados em relação à viabilidade da cultura probiótica e às alterações ocorridas na matriz pela adição destas culturas. Verruck et al. (2015) avaliaram o efeito da adição de *Bifidobacterium* BB-12 em queijo Minas frescal de búfala em relação às características físico-químicas e de textura do produto. Em outro trabalho, Fritzen-Freire et al. (2013) incorporaram *Bifidobacterium* BB-12 em creme de ricota e observaram uma boa viabilidade do micro-organismo durante o período de estocagem a $5 \pm 1^\circ\text{C}$. Em estudo realizado com um queijo fresco probiótico, Kasimoglu, Goncuoglu e Akgun (2004) verificaram uma boa contagem de células viáveis durante todo armazenamento e melhoria da aceitabilidade do produto adicionado de cultura probiótica.

O emprego de prebióticos e probióticos são também relatados em requeijão cremoso, queijo cottage e queijo *petit-suisse*. Drunkler (2009) obteve resultados positivos em relação à textura e manutenção da cultura de *Bifidobacterium* BB-12 na produção de requeijão cremoso adicionado de oligofrutose e inulina. Parodia (2010) desenvolveu um queijo cottage simbiótico, incorporado de *Bifidobacterium* BB-12 e inulina, e verificou a sobrevivência da cultura probiótica durante toda a vida útil do produto. Cardarelli et al. (2006) produziram um queijo tipo *petit-suisse* incorporado de *Bifidobacterium* e inulina e oligofrutose, e

obtiveram bons resultados para a viabilidade da bifidobactéria e uma satisfatória aceitabilidade do produto probiótico.

Entretanto, a viabilidade das culturas probióticas em queijos pode ser afetada por fatores intrínsecos, como a presença de oxigênio e o teor de acidez (LANKAPUTHRA et al., 1996). As bifidobactérias requerem um ambiente anaeróbio e de pH neutro para sobreviverem e se manterem em contagem adequada durante o armazenamento. Porém, o próprio metabolismo dos micro-organismos no interior dos queijos resulta em um ambiente quase anaeróbio, o que favorece a sua sobrevivência (BOYLSTON et al., 2004). Apesar de bifidobactérias necessitarem de um pH próximo a 7,0 para uma boa adaptação ao meio, queijos levemente ácidos (com pH variando entre 4,8 e 5,6) são capazes de proporcionar um meio estável para a sobrevivência de algumas bifidobactérias ácido-sensíveis (MARCATTI et al., 2009). Além disso, a utilização de culturas probióticas em queijos não deve provocar grandes alterações na composição, sabor e textura em relação ao produto tradicional, sem a adição de bifidobactéria (CORBO et al., 2001). E, finalmente, é importante também que a sua incorporação não altere significativamente a tecnologia de fabricação, a fim de que a produção de queijos probióticos seja atrativa também comercialmente (BOYLSTON et al., 2004).

1.6 SOBREVIVÊNCIA DE BIFIDOBACTÉRIAS À PASSAGEM PELO TRATO GASTROINTESTINAL

A habilidade de persistir às condições adversas do trato gastrointestinal é uma das características vitais que permite uma bactéria probiótica sobreviver e colonizar o intestino do hospedeiro. O meio ácido do estômago e os sais biliares segregados no duodeno são os principais obstáculos para a sobrevivência das bactérias ingeridas (RANADHEERA et al., 2012).

A simulação da resistência aos sucos gástricos e entéricos está entre os ensaios *in vitro* frequentemente sugeridos para avaliar o potencial probiótico da bactéria. A verificação da tolerância de micro-organismos probióticos ao final da simulação realizada *in vitro* auxilia na seleção da matriz alimentar adequada para garantir a eficácia e a sobrevivência do probiótico durante a passagem no trato gastrointestinal (SCHILLINGER; GUIGAS; HOLZAPFEL, 2005). O efeito protetor da matriz alimentícia sobre o probiótico (comparado à cultura pura) em relação ao ambiente hostil do trato gastrointestinal tem sido relatado por diversos autores (SHARP et al., 2008; BEDANI et al., 2013).

A ação tamponante conferida pelos alimentos de base láctea é descrita como um possível efeito protetor deste tipo de matriz quando submetidas ao processo de digestão. Adicionalmente, outros componentes podem promover um ambiente mais favorável aos micro-organismos. Alguns autores defendem que as altas concentrações de gordura presentes em determinados produtos, como é o caso de alguns tipos de queijo, podem conferir proteção às bactérias probióticas, tornando possível que o micro-organismo chegue ao cólon viável e em concentrações adequadas para resultar em efeito benéfico ao hospedeiro (BOYLSTON et al., 2004; BERGAMINI et al., 2005). Desta maneira, devido ao seu alto teor de gordura, o queijo tipo Mascarpone pode apresentar efeito protetor às bifidobactérias durante a passagem pelo trato gastrointestinal humano.

Verruck et al. (2015), Madureira et al. (2011) e Meira et al. (2015) avaliaram os efeitos durante a exposição de *Bifidobacterium* BB-12 às condições da simulação de digestão de queijo Minas frescal de búfala, ricota e ricota de cabra, respectivamente. Todos os trabalhos citados anteriormente obtiveram resultados satisfatórios quanto a viabilidade das culturas probióticas adicionadas e a contagem de células viáveis superior a 6 log UFC/g de produto após a simulação gastrointestinal *in vitro*.

1.7 CARACTERIZAÇÃO DE QUEIJOS

Conhecer a estrutura da matriz do queijo é um requisito importante para a qualidade e manufatura do produto. Diversos são os quesitos a serem avaliados em queijos cremosos, dentre eles, suas características físicas, químicas, de cor e de textura. A cor é um parâmetro de grande importância para a determinação da qualidade dos queijos, uma vez que vários fatores relacionados às matérias-primas e ao processamento podem alterar a coloração do produto final. Entre esses fatores, pode-se citar, por exemplo, os pigmentos encontrados na matéria prima; o pH; a umidade; o grau de dispersão da gordura e as variáveis de processamento, como tempo e temperatura. Além disso, o armazenamento, calor e exposição à luz são fatores preponderantes na coloração (KRISTENSEN et al., 2001; CHATELAIN et al., 2003). Os principais pigmentos responsáveis pela cor dos queijos são a riboflavina, de coloração verde, e os carotenoides, responsáveis pela coloração amarelada dos queijos, que estão diretamente relacionados com a concentração de lipídios no produto (NOZIÈRI et al., 2006).

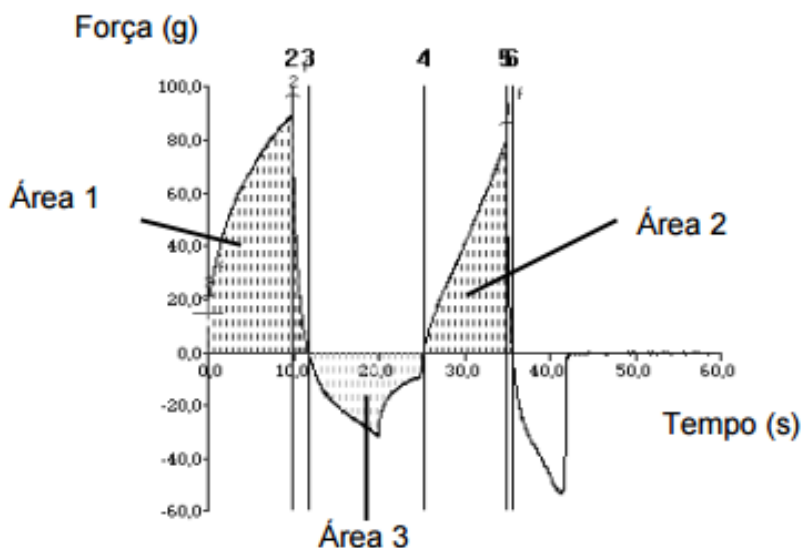
A análise de textura é uma ferramenta muito utilizada para diferenciar e classificar variedades de queijos. A textura do queijo cremoso pode ser influenciada por diversas condições de processamento, tais como temperatura, agitação, pressão de homogeneização, taxa de resfriamento, teor de umidade, teor de gordura, teor de proteína (LEE et al., 2004) ou adição de diferentes componentes, tais como inulina ou pectina (LIU et al., 2008). Todas estas variáveis podem influenciar a estrutura do produto e modificar sua textura e propriedades sensoriais.

Segundo a ABNT (1993), a textura é definida como todas as propriedades reológicas e estruturais (geométricas e de superfície) de um alimento, perceptíveis pelos receptores mecânicos, táteis e eventualmente pelos receptores visuais e auditivos. A textura também pode ser definida como a manifestação sensorial da estrutura interna dos produtos em diversos termos, e entre eles a reação à força medida como propriedades mecânicas: firmeza, adesividade, coesividade, gomosidade, elasticidade e viscosidade (ABNT, 1993).

A textura de um alimento pode ser avaliada através da análise instrumental do perfil de textura (TPA), que resulta em uma curva específica para cada tipo de alimento (PONS; FISZMAN, 1996). Essa análise é baseada na simulação de movimentos mecânicos de mordida e mastigação, onde através da geração de curvas de força *versus* tempo, é possível obter múltiplos parâmetros de textura. Para simular duas mordidas, a amostra é submetida a duas deformações consecutivas que simulam a mastigação (FOX et al., 2000). Através da curva gerada para determinado alimento pode-se determinar diversos parâmetros, sendo que estes podem ser divididos como propriedades primárias e secundárias. As propriedades primárias são (a) a *firmeza*, que é a força necessária para ocasionar uma deformação no alimento, correspondente ao pico máximo (positivo), obtido na primeira curva do ciclo de compressão; (b) a *coesividade* que é a resistência das ligações internas que compõem o alimento; (c) a *elasticidade* que é o grau de recuperação em que o alimento retorna à sua forma original após compressão e (d) a *adesividade* é a força necessária para vencer as forças de atração entre a superfície do alimento e a superfície do elemento de prova, correspondendo ao pico máximo (negativo) existente sob a curva. Já as propriedades secundárias são (a) a *mastigabilidade* que é a energia requerida para desintegrar um pedaço de alimento até o ponto de ser engolido, sendo o produto da firmeza, elasticidade e coesividade; (b) a *gomosidade* que é a densidade que persiste ao longo da mastigação, sendo um produto de baixo grau de firmeza e de alto grau de

coesividade (FOX et al., 2000). A Figura 2 apresenta uma curva padrão de TPA, destacando os parâmetros: firmeza, elasticidade e adesividade. A firmeza é definida como a força do primeiro pico durante a primeira compressão do ciclo, a elasticidade é a relação de tempo decorrido entre o início e o fim da segunda área e o tempo decorrido entre o início e o fim da primeira área e a adesividade é calculada pela área negativa sobre a curva obtida entre os ciclos (ROUDOT, 2004).

Figura 2 - Curva padrão para determinação dos parâmetros de Análise Instrumental de Perfil de Textura (TPA) obtida pela plotagem da força pelo tempo através de dois ciclos de penetração, onde o pico 2 é a firmeza, coesividade = área 2/área 1; elasticidade = relação entre tempo decorrido nos pontos 4:5 e 1:2; adesividade = área 3.



Fonte: Friedman et al. (1963) apud Pons e Fiszman (1996).

REFERÊNCIAS

AL-SHERAJI, S. H. et al. Viability and activity of bifidobacteria during refrigerated storage of yoghurt containing *Mangifera pajang* fibrous polysaccharides. **Journal of Food Science**, v. 77, p. 624-630, 2012.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA. **Compendium of methods of the microbiological examination of foods**. 4th. Edition. Washington D.C., 2001. 676 p.

ANDROUET, P. **Le livre d'Or du fromage**. Paris: Éditions Atlas, 1984. 272 p.

ARAGON-ALEGRO, L. C. et al. Probiotic and symbiotic chocolate mousse. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, p. 669–675, 2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Análise sensorial de alimentos e bebidas** – NBR 12806. Rio de Janeiro: ABNT. 1993. 8 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis of the association analytical chemists**. 18th. Edition. Maryland, USA, 2005.

BATTISTOTTI, B. et al. **Quesos del mundo**. Barcelona: Ediciones Elfos, 1985, 168 p.

BEDANI, R.; ROSSI, E.A.; SAAD, S.M.I. Impact of inulin and okara on *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* BB-12 viability in a fermented soy product and probiotic survival under *in vitro* simulated gastrointestinal conditions. **Food Microbiology**, v. 34, n. 2, p. 382-389, 2013.

BENGMARK, S. Colonic food: pre- and probiotics. **The American Journal of Gastroenterology**, Oxford, v. 95, n. 1, p. 5-7, 2000.

BIEDRZYCKA, E.; BIELECKA, M. Prebiotic effectiveness of fructans of different degrees of polymerization. **Trends in Food Science & Technology**, v. 15, p. 170-175, 2004.

BLANCHETTE, L.; et al. Production of cottage cheese using dressing fermented by bifidobacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 79, p. 8-15, 1996.

BOYLSTON, et al. Incorporation of bifidobacteria into cheeses: Challenges and rewards. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 375-387, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146 de 7 março de 1996. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 11 de março de 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 1999.

BURITI, F. C. A.; ROCHA, J. S.; SAAD, S. M. I. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas Fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. **International Dairy Journal**, v. 15, p. 1279-1288, 2005.

BURITI, F.C.A.et al. Synbiotic potential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. **Food Chemistry**, v. 104, p.1605-1610, 2007.

BURNS, P. et al. Technological and probiotic role of adjunct cultures of non-starter lactobacilli in soft cheeses. **Food Microbiology**, v. 30, p. 45-50, 2012.

CALDER, P.C.; KEW, S. The immune system: a target for functional foods? **Brazilian Journal Nutrition**, v. 88, p. 165-176, 2002.

CARABIN, I. G.; FLAMM, W. G. Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, San Diego, v. 30, p. 268-82, 1999.

CARDARELLI, H.R. et al. **Desenvolvimento de queijo “petit-suisse” simbiótico**. 2006. Tese. (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

CAUSEY, J. L. et al. Effects of dietary inulin on serum lipids, blood glucose and the gastrointestinal environment in hypercholesterolemic men. **Nutrition Research**, v. 20, n. 2, p. 191-201, 2000.

CHATELAIN, Y. et al. La couleur du lait et des produits laitiers et sa mesure – un article de systhèse. **Millelungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene**, v. 94, p. 461-488, 2003.

CORBO, M. R. et al. Microbiological and biochemical properties of Canestrato Pugliese hard cheese supplemented with bifidobacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 551–561, 2001.

COURTINE, R. J. **Larousse des fromages**. Paris: Librairie Larousse, 1973. 255 p.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900 p.

DELFORNO, G. Studio sulla composizione chimica dei principali formaggi italiani. **Il mondo del latte**. v.8. p.493-498, 1981.

DRUNKLER, D.A. **Produção de requeijão cremoso simbiótico**. 2009. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

FAO/WHO. **Probiotics in food: health and nutritional properties and guideline for evaluation**. Córdoba, 2006. 54p. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0512e/a0512e00.pdf>. Acesso em 17 setembro 2014.

FARIA, C. P.; BENEDET, H. D.; LE GUERROUE, J. Parâmetros de produção de leite de búfala fermentado por *Lactobacillus casei*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 3, p. 511-516, 2006.

FRANCK, A. Technological functionality of inulin and oligofructose. **British Journal of Nutrition**, v. 87, p. 287-291, 2002.

FRITZEN-FREIRE, C.B. et al. The influence of *Bifidobacterium* Bb-12 and lactic acid incorporation on the properties of Minas Frescal cheese. **Journal of Food Engineering**, v. 96, n. 4, p. 621–627, 2010.

FRITZEN-FREIRE, C. B. et al. Effect of the application of *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulated by spray drying with prebiotics on the properties of ricotta cream. **Food Research International**, v. 52, n. 1., p. 50-55, 2013.

FUENTES, J.A.G. Que alimentos convêm ao coração? **Higiene Alimentar**, v.12, n.53, p.7-11, 1998.

GIBSON, G. R.; FULLER, R. Aspects of *in vitro* and *in vivo* research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 391-395, 2000.

GOBBETTI, M. et al. Production of Crescenza cheese by incorporation of bifidobacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 37-47, 1998.

GORBACH, S. L. Probiotics and gastrointestinal health. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 95, n. 1, p. 2-4, 2000.

GUARNER, F.; MALAGELADA, J.R. Gut flora in health and disease. **Lancet**, v. 360, p. 512-518, 2003.

HARBUTT, J.; DENNY, R. **Manual Enciclopédico do Queijo**. Lisboa: Editorial Estampa, 1999. 256 p.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos**, 4ª edição. IAL, São Paulo, Brasil, 2008.

ISOLAURI, E.; SALMINEN, S.; OUWEHAND, A. Probiotic. **Best Practice Research, Clinical Gastroenterology**, v. 18, p. 299-313, 2004.

KASIMOGLU, A.; GONCUOGLU, M.; AKGUN, S. Probiotic white cheese with *Lactobacillus acidophilus*. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 1067-1073. 2004.

KOLIDA, S.; GIBSON, G.R.; Symbiotics in health and disease. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 2, p. 373-393, 2011.

KOPP-HOOLIHAN, L. Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 101, p. 229-241, 2001.

KRISTENSEN, D. et al Influence of light and temperature on the colour and oxidative stability of processed cheese. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 837-843, 2001.

LANKAPUTHRA, W.E.V.; SHAH, N.P. A simple method for selective enumeration médium of *Lactobacillus acidophilus* in yogurt supplemented with *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. **Milchwissenschaft**, v. 51, p. 446- 451, 1996.

LEE, S. K.S; ANEMA, S.; KLOSTERMEYER, H. The influence of moisture content on the rheological properties of processed cheese

spreads. **International Journal Food Science Technology**, v. 39, p. 763–771, 2004.

LIU, H.; XU, X. M.; GUO, S.D. Comparison of full-fat and low-fat cheese analogues with or without pectin gel through microstructure, texture, rheology, thermal and sensory analysis. **International Journal Food Science Technology**, v. 43, p. 1581–1592, 2008.

MADUREIRA, A. R. et al. Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v. 44, p. 465–470, 2011.

MARCATTI, B. et al. S. Minas-type fresh cheese developed from buffalo milk with addition of *L. acidophilus*. **Scientia Agricola**, v. 66, n. 4, p. 481–485, 2009.

MARTINEZ-CERVERA, S.; SALVADOR, A.; MUGUERZA, B.; MOULAY, L.; FISZMAN, S.M. Cocoa fibre and its application as a fat replacer in chocolate muffins. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 729–736, 2011.

MC BREARTY, S. et al. Influence of two commercially available bifidobacteria cultures on Cheddar cheese quality. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 599–610, 2001.

MÉDICI, M.; VINDEROLA, C. G.; PERDIGÓN, G. Gut mucosal immunomodulation by probiotic fresh cheese. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 611–618, 2004.

MEIRA Q. G. S., et al. Effects of added *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* probiotics on the quality characteristics of goat ricotta and their survival under simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v. 76, p. 828–838, 2015.

MEYER, D. et al. Inulin as texture modifier products. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1881–1890, 2011.

MONREAL, M.T.F.D.; PEREIRA, P.C.M; LOPES, C.A.M. Intestinal microbiota of patients with bacterial infection of the respiratory tract with Amoxicillin. **Brazilian Journal Infectious Diseases**, v. 9, p. 292–300, 2005.

MURPHY, O. Non-polyol low-digestible carbohydrates: food applications and functional benefits. **Brazilian Journal Nutrition**, v. 85, p. 47–53, 2001.

NAZZARO, F. et al. Biochemical Traits, Survival and Biological Properties of the probiotic *Lactobacillus plantarum* grown in the presence of prebiotic inulin and pectin as energy source.

Pharmaceuticals, v. 5, p. 481-492, 2012.

NITSCHKE, M.; UMBELINO, D. C. Frutooligossacarídeos: novos ingredientes funcionais. **Boletim da SBCTA**, Campinas, v. 36, n. 1, p. 27-34, 2002.

NOZIÈRE, P. et al. Carotenoids for ruminants: From forages to dairy products. **Animal Feed Science and Technology**, v. 131, p. 418-450, 2006.

OLIVEIRA, J. S. **Queijo: fundamentos tecnológicos**. 2 ed. São Paulo: Ícone, 1990.

OLIVEIRA, M. N. et al. Aspectos Tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 38, n. 1, p. 1-21, 2002.

ORDÓÑEZ, J. A.; DÍAZ, O.; COBOS, A.; HOZ, L. **Tecnologia de Alimentos – Alimentos de origem animal**. v. 2. Porto Alegre: Artmed, 2005.

PARODIA, C.G. **Desenvolvimento de queijo cottage simbiótico**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2010.

PHILLIPS, M.; KAILASAPATHY, K.; TRAN, L. Viability of commercial probiotic cultures (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium* sp., *L. casei*, *L. paracasei* and *L. rhamnosus*) in cheddar cheese. **International Journal of Food Microbiology**, v. 108, p. 276–280, 2006.

PINTO, M. G. V. et al. *Lactobacillus* spp. with *in vitro* probiotic properties from human faeces and traditional fermented products. **International Journal of Food Microbiology**. v. 109, p. 205–214, 2006.

PINTO, S. S. et al. Effects of the addition of microencapsulated *Bifidobacterium* Bb-12 on the properties of frozen yogurt. **Journal of Food Engineering**, v. 111, p. 563-569, 2012.

POHJAVUORI, E. et al. *Lactobacillus* GG effect in increasing IFN- γ production in infants with cow's milk allergy. **Journal Allergy Clinical Immunology**, v. 114, n. 2, p. 131-136, 2004.

PONS, M.; FISZMAN, S. M. Instrumental texture profile analysis with particular reference to gelled systems. **Journal of Texture Studies**, v. 27, p. 597-624, 1996.

PRASANNA, P. H. P.; GRANDISON, A. S.; CHARALAMPOPOULOS, D. Bifidobacteria in milk products: An overview of physiological and biochemical properties, exopolysaccharide production, selection criteria of milk products and health benefits. **Food Research International**, v. 55, p. 247-262, 2014.

RANADHEERA, C.S. et al. *In vitro* analysis of gastrointestinal tolerance and intestinal cell adhesion of probiotics in goat's milk ice cream and yogurt. **Food Research International**, v. 49, p. 619-625, 2012.

RESMINI, P.; PAGANI, M. A.; PRATI, F. L'ultrafiltrazione del latte nella tecnologia dei Mascarpone. **Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia**, v. 3, n. 21, p. 3-30, 1984.

ROBERFROID, M. B. Concepts in functional foods: the case of inulin and oligofructose. **Journal of Nutrition**, v. 129, p. 1398-1401, 1999.

ROKKA, S., RANTAMÄKI, P. Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. **European Food Research Technology**, v. 231, p. 1-12, 2010.

ROUDOT, A.C. Reología y análisis de la textura de los alimentos. Tradução: Angel Ignacio Neguerela Suberviola. Zaragoza: Acribia, 2004.

SACCHI, L. et al. **Formaggi Italiani – Dalla A alla Z**. II Edizione. Milano. RCS Libri S.p.A, 2003.

SALMINEN, S.; KENIFEL, W.; OUWEHAND, A. C. Probiotics, Applications in Dairy Products. In: **Encyclopedia of Dairy Sciences**, FUQUAY, J. W.; FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. (eds.), Second Edition, vol. 1, San Diego: Academic Press, 2011. pp. 503-511.

SAVINI, E. **Il Meschérpone**, Istituto Sperimentale di Caseificio, 3ª ed., 1950, 11 p.

SHAH, N. P. *Bifidobacterium* spp.: Applications in Fermented Milks. In: **Encyclopedia of Dairy Sciences**, FUQUAY, J. W.; FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. (eds.), Second Edition, vol. 1. San Diego: Academic Press, 2011. pp. 389-394.

SCHILLINGER, U., GUIGAS, C.; HOLZAPFEL, H. *In vitro* adherence and other properties of lactobacilli used in probiotic yoghurt-like products. **International Dairy Journal**, v. 15, p. 1289–1297, 2005.

SHUKLA, D. C.; LADKANI, B.G.; Quality of direct acid mozzarella cheese from buffalo milk. **Journal of Dairy Science**, v. 3, p. 42, 1989.

TEIXEIRA, L. V.; BASTIANETTO, E.; OLIVEIRA, D. A. A. Leite de Búfala na Indústria de Produtos Lácteos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 29, p. 96-100, 2005.

TRONCO, V.M. Propriedades físico-químicas do leite e sua aplicação tecnológica. **Leite & Derivados**, v. 27, p. 41-43, 1996.

VAN DENDER, A. G. F; MORENO, I.; GARCIA, S.; The use of buffalo's milk cream and cow's milk in the manufacturing process of mascarpone cheese. **Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 43, n. 259, p. 35-42, 1988.

VANDERHOOF, J. A.; YOUNG, R. J. Role of probiotics in the management of patients with food allergy. **Ann Allergy Asthma Immunological**, v. 90, n. 3, p. 99-103, 2003.

VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobactéria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. **International Dairy Journal**, v. 10, p. 271-275, 2000.

VINDEROLA, G.; MATAR, C.; PERDIGÓN, G. Milk fermentation products of *L. helveticus* R389 activate calcineurin as a signal to promote gut mucosal immunity. **BMC Immunology**, v. 8, 2007.

VINDEROLA, G.; et al. Growth of *Lactobacillus paracasei* A13 in Argentinian probiotic cheese and its impact on the characteristics of the product. **International Journal of Food Microbiology**, v. 135, p. 171-174, 2009.

WADA, T. et al. Physicochemical characterization and biological effects of inulin enzymatically synthesized from sucrose. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 53, p. 1246-1253, 2005.

ZIEMER, C. J.; GIBSON, G. R. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. **International Dairy Journal**, v. 8, p. 473-479, 1998.

CAPÍTULO 2 - CARACTERIZAÇÃO E SIMULAÇÃO GASTROINTESTINAL *IN VITRO* DE QUEIJO TIPO MASCARPONE ADICIONADO DE INULINA E *Bifidobacterium* BB-12

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito protetor da matriz do queijo tipo Mascarpone em relação à incorporação de *Bifidobacterium* BB-12 e inulina. Foram avaliados os parâmetros físico-químicos, de cor e de textura durante o armazenamento sob refrigeração ($5 \pm 1^\circ\text{C}$), bem como a viabilidade da cultura probiótica durante a estocagem e a sobrevivência após exposição às condições de simulação gastrointestinal *in vitro*. Após o período de estocagem, as amostras de queijo não apresentaram diferenças significativas ($P > 0,05$) em relação ao rendimento e aos teores de gordura, proteína, umidade e cinzas. Ao final de 30 dias, foi observada uma tendência ao aumento ($P < 0,05$) da firmeza e da adesividade para todas as amostras de queijo. Os parâmetros L^* e a^* foram mantidos ($P > 0,05$), enquanto o parâmetro b^* aumentou ($P < 0,05$) para todas as amostras, indicando um aumento da tendência à coloração amarela. Para as condições gastrointestinais simuladas *in vitro*, os queijos adicionados de bifidobactéria foram submetidos à sequência de condições encontradas na boca, esôfago-estômago, duodeno e íleo humano. O caldo MRS foi inoculado em paralelo como meio de referência. Foi constatado então o efeito protetor da matriz do queijo sobre a *Bifidobacterium* BB-12, inclusive a recuperação de células injuriadas após a etapa do duodeno e o retorno à contagem inicial de células viáveis. A contagem final de células viáveis foi superior ao valor mínimo recomendado para um alimento ser considerado probiótico ($> 6 \log \text{UFC/g}$), tanto ao longo da estocagem do queijo, como após as condições de simulação gastrointestinal. Assim, o queijo tipo Mascarpone produzido neste estudo demonstrou ser uma matriz eficaz à incorporação de bifidobactérias e apresentou o efeito protetor ao probiótico esperado durante a simulação gastrointestinal *in vitro*, sendo, então, considerado um ótimo carreador da cultura probiótica.

Palavras-chave: Queijo fresco, *Bifidobacterium* BB-12, prebiótico, probiótico, inulina, simulação gastrointestinal *in vitro*.

ABSTRACT

The aim of the study was evaluated the protective effects of the Mascarpone cheese matrix added of *Bifidobacterium* BB-12 and inulin. The physicochemical, color and textural parameters of this product were analysed during refrigerated storage, as well as the protective effects of the Mascarpone cheese on probiotic viability during storage and the survival after exposure to simulated gastrointestinal conditions. After the storage time the cheeses samples shown no differences ($P > 0.05$) in relation to yield, moisture, ash, fat and protein content. Over 30 days, was observed a tendency to increase ($P < 0.05$) of firmness and adhesiveness for all samples. The L^* and a^* values were maintained ($P > 0.05$) for each sample, and the b^* parameter values increased ($P < 0.05$), indicating an increase in tendency toward a yellow color. For the *in vitro* simulated gastrointestinal conditions, the cheeses added with bifidobacteria were subjected to sequential conditions of the human mouth, esophagus-stomach, duodenum and ileum. MRS broth was inoculated in parallel as reference medium. A protective effect of the matrix cheese on *Bifidobacterium* BB-12 was observed, including the recovery of the lethally-injured cells after the duodenum step, returning to initial viable cells count values. The final viable cells count was greater the minimum value to be considered probiotic ($> 6 \log \text{CFU g}^{-1}$) throughout the storage and after the simulated gastrointestinal conditions. Thus, Mascarpone cheese produced this study demonstrated the expected effective matrix for incorporation of bifidobacteria and showed a good protective effect on gastrointestinal probiotics during simulation *in vitro*, then considered a greater carrier of probiotic culture.

Keywords: Fresh cheese, *Bifidobacterium* BB-12, prebiotic, probiotic, inulin, *in vitro* simulated gastrointestinal.

1 INTRODUÇÃO

O amplo crescimento do setor de alimentos com alegações benéficas à saúde tem sido determinante para o desenvolvimento de novos produtos, tais como os alimentos probióticos. Leites, iogurtes, leites fermentados, sobremesas e diversos tipos de queijos são os principais produtos probióticos encontrados no mercado (ARAGON-ALEGRO et al., 2007; SAARELA et al., 2006). Dentre eles, estão os queijos cremosos (BURITI; CARDARELI; SAAD, 2007) e os queijos frescos (BURITI et al., 2005; VINDEROLA et al., 2000).

Queijos frescos são considerados bons veículos para adição de micro-organismos probióticos, devido à suas condições favoráveis de pH e teor de gordura (BOYLSTON et al., 2004). O queijo tipo Mascarpone é um queijo fresco, cremoso, de textura leve, suave e de boa espalhabilidade. É obtido através da coagulação ácida à quente do creme de leite, e, dessa forma, é um produto de fácil obtenção, de tecnologia de fabricação barata, e ao mesmo tempo, de alto valor agregado. Devido às suas propriedades físico-químicas (principalmente pelo seu alto teor de gordura), pode ser considerado como uma ótima matriz para a manutenção e sobrevivência de culturas probióticas (ANONYMOUS, 1998).

Probióticos são definidos como bactérias que afetam benéficamente o hospedeiro quando administrados em quantidades adequadas e de forma contínua (FAO/WHO, 2006). As culturas probióticas comumente utilizadas em produtos lácteos funcionais são pertencentes ao gênero *Bifidobacterium*, as quais beneficiam a saúde humana através da regulação da microflora intestinal (GOMES; MALCATA, 1999; OLIVEIRA et al., 2002). Além disso, contribuem na defesa contra agentes patógenos, produzindo substâncias com efeito tóxico a estes micro-organismos (ROBINSON; SAMONA, 1992). Outros efeitos benéficos ao consumidor incluem um aumento da resposta imune, redução do colesterol sérico, síntese de vitaminas e atividade anticarcinogênica (ROBINSON; SAMONA, 1992; BLANCHETTE; ROY; GOMES; MALCATA, 1999; ARUNACHALAM et al., 1999; LOURENS-HATTING; VILJOEN, 2001).

Para um produto ser considerado probiótico, o mesmo deve possuir contagem de células viáveis igual ou superior a $6 \log$ UFC/g durante todo o período de estocagem e após a passagem pelo trato gastrointestinal humano (SHAH et al., 2011). Diversas estratégias têm sido empregadas para a manutenção de altas taxas de sobrevivência dos

probióticos durante o processo de digestão do alimento até a chegada ao cólon, dentre elas, a utilização de prebióticos. Os prebióticos, como a inulina, demonstram efeito protetor em relação à *Bifidobacterium* BB-12, estimulando seletivamente a sua proliferação no cólon. Um produto que contenha combinações adequadas de probióticos e prebióticos melhoram a implantação e manutenção das bactérias probióticas no trato gastrointestinal (SU et al., 2007; MARTINEZ et al., 2011).

Para garantir que o probiótico chegue em quantidades adequadas até o cólon e exerça seu efeito benéfico, faz-se necessário avaliar as taxas de sobrevivência de *Bifidobacterium* BB-12 após o processo de simulação gastrointestinal *in vitro*. De acordo com Madureira et al. (2011), um requisito importante para um micro-organismo cumprir seu papel como probiótico é se manter viável, em números suficientemente altos desde a inoculação no produto, durante todo o armazenamento, e até o final do processo de digestão.

As condições de simulação gastrointestinal realizadas neste estudo incluíram todas as seções do trato gastrointestinal: boca (com solução de α -amilase), esôfago-estômago (com gradual diminuição do pH e presença de pepsina), duodeno (presença de sais biliares e pancreatina, e gradual aumento do pH) e íleo; além de simulação mecânica dos movimentos peristálticos presentes no trato gastrointestinal humano, como realizado previamente no estudo de Verruck et al. (2015).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade da adição de cultura probiótica de *Bifidobacterium* BB-12 em queijo tipo Mascarpone, e a influência da adição de bifidobactéria e inulina no rendimento e nas propriedades físico-químicas, de cor e de textura das amostras no dia 1 e dia 30 de armazenamento, sob refrigeração ($5 \pm 1^\circ\text{C}$). Finalmente, objetivou-se avaliar o efeito protetor da matriz do queijo tipo Mascarpone na sobrevivência de bifidobactéria durante e após a simulação gastrointestinal *in vitro*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

Na elaboração do queijo tipo Mascarpone foi utilizado creme de leite padronizado (teor de gordura \pm 30% m/m) (Do Vale, Florianópolis, Brasil), cultura láctea probiótica contendo *Bifidobacterium animalis* ssp. Lactis (Bb-12[®], Chr Hansen, Hoersholm, Dinamarca), inulina (Orafti[®] HPX, Orafti, Tienen, Bélgica), com grau de polimerização (DP) \geq 23, caseína (Lactoprot Deutschland, Kaltenkirchen, Alemanha) e ácido cítrico (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil). Para determinar a contagem de células viáveis de bifidobactérias foram utilizados caldo MRS agar (Difco, Sparks, EUA), cloreto de lítio (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), propionato de sódio (Fluka, Neu-Ulm, Alemanha) e AnaeroGen[®] (Oxoid, Hampshire, Reino Unido). As enzimas α -amilase obtidas de *Aspergillus oryzae* (EC 3.2.1.1) (28,75 U/mg de proteína), pepsina da mucosa gástrica suína (EC 3.4.23.1) (\geq 400 U/mg de proteína) e pancreatina de pâncreas suíno (poder digestivo - 8 x USP); e os sais biliares de bovinos utilizado para as condições gastrointestinais simuladas *in vitro* foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA).

2.2 ELABORAÇÃO DE QUEIJO TIPO MASCARPONE

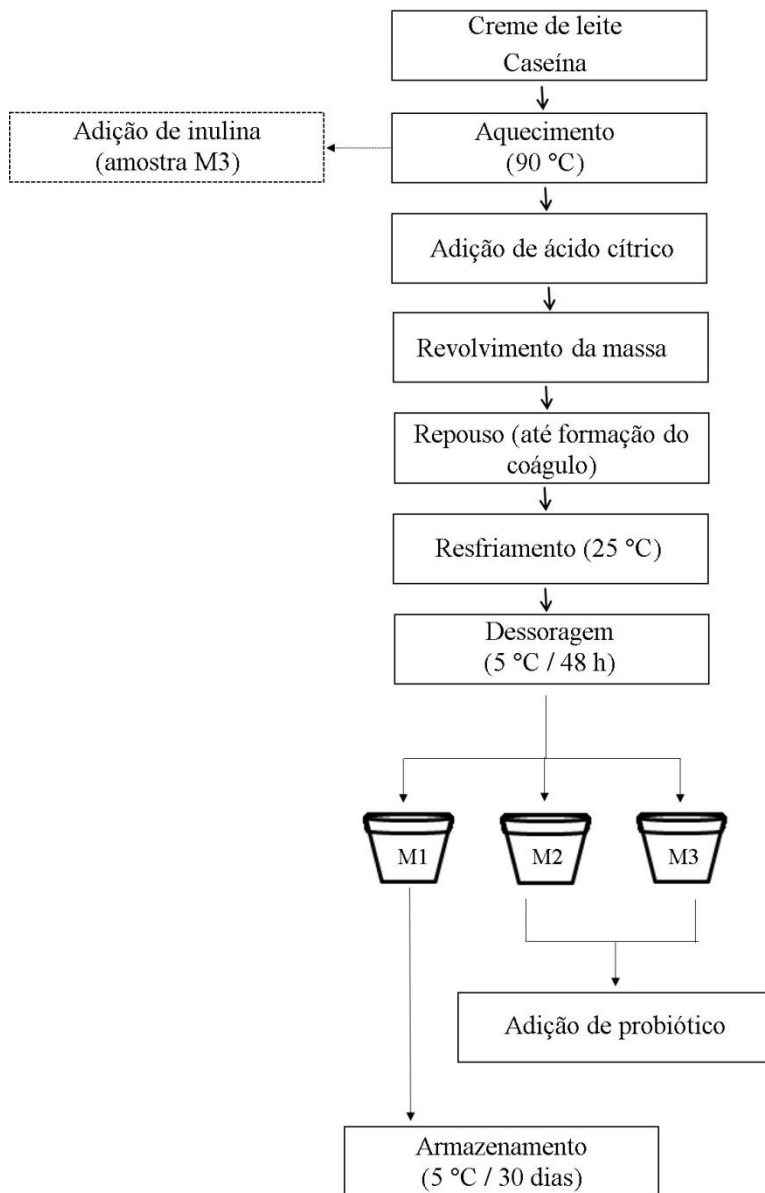
Três diferentes formulações de queijo tipo Mascarpone foram produzidas, segundo metodologia proposta por Van Dender (1988), com modificações. As amostras foram assim denominadas: M1 – queijo tipo Mascarpone sem adição de cultura probiótica (controle); M2 – queijo tipo Mascarpone com adição de *Bifidobacterium* BB-12; e M3 – queijo tipo Mascarpone com adição de bifidobactéria e inulina. As amostras de queijo foram obtidas conforme fluxograma ilustrativo exposto na Figura 1.

Inicialmente foi adicionado 1,5% (m/m) de caseína ao creme de leite padronizado; esta mistura foi devidamente homogeneizada e submetida ao aquecimento (aproximadamente 90 °C). Após isso, foi adicionado 6,0% (m/v) de solução de ácido cítrico 5,0% (m/m), sob constante agitação, até a formação de um coágulo denso e de textura delicada, característico do produto. Para a amostra M3, anteriormente à acidificação, também foi adicionado 1,0% (m/m) de inulina. Em sequência, os queijos obtidos ficaram em repouso até completa formação do coágulo, para então serem resfriados até aproximadamente 25 ± 1 °C e gentilmente transferidos para dessoradores, previamente

esterilizados, para o início da dessoragem. Esta etapa foi realizada por 48 horas sob refrigeração (5 ± 1 ° C). Após a completa dessoragem, as amostras M2 e M3 foram inoculadas com 0,2 g/100 g de cultura líquida reconstituída de *Bifidobacterium* BB-12.

Ao final, os queijos foram embalados em copos plásticos com capacidade de 100 mL, selados com folha de alumínio, e armazenado sob refrigeração (5 ± 1 ° C) durante 30 dias. Para cada uma das amostras, cada batelada foi produzida em triplicata.

Figura 1 - Fluxograma do processo de fabricação do queijo tipo Mascarpone.



Fonte: acervo do autor

2.3 RENDIMENTO

O rendimento de cada batelada de queijo tipo Mascarpone (após 1 dia de estocagem) foi obtido através da Equação 1, onde m_1 é a massa (g) de queijo obtida após a fabricação e m_0 é a massa (g) de creme de leite inicial empregado, em triplicata.

$$\text{RENDIMENTO (\%)} = \left(\frac{m_1}{m_0} \right) \times 100 \quad (1)$$

2.4 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

A viabilidade da bactéria probiótica *Bifidobacterium* BB-12 foi monitorada para os queijos M2 e M3. Aproximadamente 25 g de queijo foram misturados em 225 mL de água peptonada (0,1g de peptona diluída em 100 mL de água) em *Bag Mixer*® 400 (Interscience, St. Nom, France) e, então as amostras foram submetidas a diluições seriadas com o mesmo diluente. O plaqueamento foi realizado em profundidade e a enumeração da cultura probiótica foi realizada utilizando o meio ágar MRS (DE MAN, ROGOSA e SHARPE) modificado com adição de 0,2% (m/v) de cloreto lítio e 0,3% (m/v) de propionato de sódio (VINDEROLA; REINHEIMER, 2000). As placas foram incubadas em jaras de anaerobiose contendo (Anaerogen®), a 37 ± 1 °C por 72 horas. Após o período de incubação, a contagem de células viáveis probióticas foi expressa em log de Unidades Formadoras de Colônias por grama (log UFC/g). Todas as análises foram realizadas em duplicata.

2.5 Análises físico-químicas

As amostras de queijo tipo Mascarpone (M1, M2 e M3) foram analisadas quanto ao teor de umidade (% m/m) por meio de secagem a peso constante a 105 °C e quanto ao teor de lipídios (% m/m) através de extração em Soxhlet com éter etílico, conforme metodologia descrita no Manual de Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). O teor de proteínas (% m/m) foi estimado através da determinação de teor de nitrogênio total pelo método de Kjeldahl ($N \times 6,38$) e o teor de cinzas (% m/m) submetendo as amostras a 550 °C em forno de mufla, seguindo metodologia da AOAC (2005). A medida do valor de pH dos queijos foi determinada através de potenciômetro (W3B, BEL Engineering, Itália), enquanto a acidez (% de ácido láctico) foi determinada através de

metodologia descrita pela AOAC (2005). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.5.1 Capacidade de retenção de água

A capacidade de retenção de água (CRA) das amostras de queijo M1, M2 e M3 foi determinada de acordo com metodologia proposta por Sodini et al. (2006), com modificações. Dez gramas de cada amostra foram centrifugados a $1.250 \times g$ por 10 min a 5°C em centrífuga refrigerada (Nova Técnica, Piracicaba, São Paulo). A quantidade de soro, em gramas, expelida durante a centrifugação (S) foi pesada, e a CRA foi calculada como descrito na Equação 2.

$$CRA = \left(10 - \frac{S}{10}\right) \times 100 \% \quad (2)$$

2.6 ANÁLISE INSTRUMENTAL DE TEXTURA

As análises instrumentais de textura foram realizadas utilizando texturômetro TA-XT *plus* (Stable Micro Systems Ltda, Surrey, Reino Unido) e software Texture Exponent 32 (Stable Systems, versão 4.0.13.0, 2007). As análises de textura foram realizadas segundo metodologia descrita por Buriti, Cardarelli e Saad (2008). As amostras com 50 mm de diâmetro e 20 mm de altura, foram mantidas em recipientes de 100 mL, e submetidas a análise à temperatura de $8 \pm 1^\circ\text{C}$. Para cada amostra, foram realizadas cinco medidas utilizando um probe de alumínio cilíndrico de 25 mm de diâmetro, profundidade de penetração de 10 mm e velocidade de $1,0 \text{ mm s}^{-1}$. Os dados de força em função do tempo foram obtidos para os dois ciclos de compressão-descompressão. Os parâmetros obtidos nesta análise foram: Firmeza (N), adesividade (N.s) e elasticidade.

2.7 ANÁLISE DE COR

A análise da cor das amostras de queijo foi determinada através de um colorímetro (Minolta Chroma Meter CR-400, Osaka, Japão), ajustado para operar com iluminante D65 e ângulo de observação de 10° , e previamente calibrado. A escala CIELab foi utilizada para medir os parâmetros L^* , a^* e b^* . O parâmetro L^* varia de 0 a 100 e é referente a luminosidade da amostra (variando de preto ao branco); o parâmetro

a^* é referente a variação do vermelho ($+a^*$) ao verde ($-a^*$), enquanto o parâmetro b^* é a variação do amarelo ($+b^*$) ao azul ($-b^*$). A diferença total de cor (ΔE) foi calculada a partir dos valores observados no tempo final (dia 30) e inicial (dia 1) de armazenamento através da Equação 3 (OKPALA; PIGGOTT; SCHASCHKE, 2010).

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (3)$$

Onde ΔL^* é a diferença de luminosidade para a amostra de queijo entre os dias 1 e 30 de armazenamento; assim como Δa^* é a diferença entre a intensidade da cor verde; e Δb^* a diferença de intensidade da cor amarela. Esta análise foi realizada em triplicata.

2.8 SOBREVIVÊNCIA DE *bifidobacterium* BB-12 EM SIMULAÇÃO GASTROINTESTINAL *IN VITRO*

2.8.1 Preparação das amostras de queijo

Os queijos tipo Mascarpone adicionados de bifidobactéria, M2 e M3, foram divididos em frações de 25 g, e distribuídos em frascos estéreis. As amostras de queijo utilizadas para o ensaio da simulação gastrointestinal *in vitro* foram divididas da seguinte forma: C1, amostra de queijo com bifidobactéria e C2, amostra de queijo com bifidobactéria e inulina, expostas às condições de simulação gastrointestinal *in vitro*, entretanto, utilizadas apenas para ajustes de pH; C3 é a amostra de queijo com bifidobactéria e C4 a amostra de queijo com bifidobactéria e inulina, porém não expostas às condições de simulação gastrointestinal, e foram designadas como amostras controle; e C5 é a amostra de queijo com bifidobactéria e C6 a amostra de queijo com bifidobactéria e inulina, expostas às condições de simulação gastrointestinal. Todas as amostras foram preparadas em triplicata.

2.8.2 Preparação do caldo MRS

O comportamento da cepa probiótica no caldo MRS proporciona uma boa base para comparação do crescimento dos micro-organismos e permite a avaliação do efeito protetor da matriz do queijo sobre as culturas probióticas (MADUREIRA et al., 2011). Desta forma, o caldo MRS foi utilizado como um controle da análise de simulação gastrointestinal *in vitro*. O caldo MRS foi dividido em frações de 25 mL e distribuído em frescos estéreis. Todas as amostras foram inoculadas

com *Bifidobacterium* BB-12 (0,10 g/L de caldo MRS incubado por 48 h a 37 ± 1 °C). Para a realização da análise, as amostras de caldo foram divididas como a seguir: B1 é a amostra de caldo exposta às condições de simulação gastrointestinal, utilizadas apenas para ajustes de pH; B2 é a amostra de caldo não exposta às condições de simulação gastrointestinal (controle); e B3 é a amostra de caldo exposta às condições de simulação gastrointestinal. Todas as amostras foram preparadas em triplicata.

2.8.3 Condições gastrointestinais simuladas

As condições utilizadas nesta análise simulam as condições típicas predominantes (soluções enzimáticas, valores de pH, tempo de permanência em cada compartimento) na boca, esôfago-estômago, duodeno e íleo, sequencialmente. As análises foram realizadas nas amostras de queijo C1, C2, C5 e C6 e nas amostras de caldo B1 e B3, de acordo com o protocolo estabelecido por Laurent, Besancon e Capiriccio (2007) e por Madureira et al. (2011), com algumas modificações. Um banho termostatzado (Dist DI950M, Florianópolis SC, Brasil) foi mantido a 37 ± 1 °C, simulando a temperatura corporal humana, enquanto a agitação mecânica foi utilizada para simular os movimentos peristálticos, com intensidades semelhantes às atingidas em cada compartimento digestivo. Todas as soluções enzimáticas foram preparadas e esterilizadas com filtro de membrana de 0,22 micrometros (MF-Millipore, Billerica, MA, EUA) nos dias das análises, e mantidas em banho de gelo durante todo o período do processo de simulação.

A primeira etapa realizada foi a da mastigação, na qual são simulados os movimentos decorridos na boca, em que foi utilizada uma solução de saliva preparada com 100 U/mL de α -amilase diluída em solução de CaCl_2 1 mmol/L. O pH foi inicialmente ajustado até 6,9 utilizando 1 mol/L de NaHCO_3 . Foram pesados 25 g de amostra e a solução de saliva foi adicionada a uma taxa de 0,6 mL/min durante 2 minutos, em constante agitação de 200 rpm (CHOI et al., 2007).

Para a simulação do esôfago-estômago, o pH das amostras foi diminuído gradualmente até 2,0, utilizando solução 1 mol/L de HCl. Após, foram adicionados 0,05 mL de solução de pepsina (25 mg/mL em 0,1 mol/L de HCl) por grama de amostra. Esta solução foi adicionada em alíquotas de iguais proporções durante toda a fase gástrica totalizando 90 min sob uma agitação de 130 rpm. Na etapa do duodeno, o valor do pH foi aumentado inicialmente para 5,0, com a adição de solução NaHCO_3 1 mol/ L; para cada grama de amostra, foram

adicionados 0,25 mL de solução de sais biliares e pancreatina (2,0 g/L de pancreatina e 12 g/L de sais biliares bovinos em 0,1 mol/L de NaHCO_3), sob agitação de 45 rpm durante 20 min. A última etapa foi a do íleo, onde o pH foi aumentado para 6,5 mediante adição de solução de NaHCO_3 1 mol/L, com agitação constante a 45 rpm por 90 min.

Ao final de cada etapa, as amostras de queijo e de caldo MRS foram avaliadas quanto à contagem de células viáveis de bifidobactéria, como descrito previamente. Desta forma, a diluição para cada amostra foi corrigida com água peptonada (1 g/L) até atingir 225 mL para 25 g de queijo ou 225 mL para 25 mL de caldo MRS. As condições gastrointestinais simuladas foram realizadas de forma contínua, assim, e com a adição das soluções, o volume global das amostras aumentou, exatamente como acontece durante a digestão real.

A fim de avaliar a taxa de sobrevivência das bifidobactérias submetidas às condições gastrointestinais simuladas, foi utilizada a Equação 4 (GUO et al., 2009).

$$\text{Taxa de sobrevivência (\%)} = \left(\frac{\log UFC\ N1}{\log UFC\ N0} \right) \times 100 \quad (4)$$

Onde N_1 é o número total de células viáveis de bifidobactéria após exposição a cada etapa das condições de simulação gastrointestinal e N_0 é o número de células viáveis de bifidobactéria inicial, anterior à exposição gastrointestinal simulada.

2.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para determinar diferenças significativas entre as amostras de queijo tipo Mascarpone. As diferenças detectadas entre as médias foram obtidas utilizando teste de Tukey ($P < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software STATISTICA versão 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Os resultados referentes às contagens de células viáveis das amostras de queijo tipo Mascarpone inoculadas com bifidobactéria se encontram na Tabela 1. As amostras M2 e M3 obtiveram populações médias de *Bifidobacterium* BB-12 nos valores de 8,09 e 8,83 log UFC/g, respectivamente, no primeiro dia de estocagem. Após 30 dias de armazenamento, estes valores foram de 7,57 log UFC/g para amostra M2 e 7,94 log UFC/g para amostra M3.

Foi observada uma redução ($P < 0,05$) no número de células viáveis das amostras M2 e M3 durante a estocagem. Estudos anteriores reportaram diminuições de 1,0 ciclo logarítmico ou mais, na viabilidade de cepas probióticas de *Bifidobacterium* ssp. em produtos lácteos estocados sob-refrigeração durante 21 dias, os quais também apresentaram contagens iniciais de probióticos em torno de 7 a 8 log UFC/g imediatamente após a produção (MARTÍN-DIANA et al., 2004; BURITI et al., 2007). As amostras de queijo tipo Mascarpone apresentaram contagem de bifidobactéria com valores acima de 6 log UFC/g, valor mínimo recomendado para um alimento exercer benefícios probióticos (SHAH et al., 2011) e este valor foi mantido até o final da estocagem.

A alta sobrevivência de bifidobactérias encontradas nestes queijos pode ser atribuída à resposta específica da bactéria probiótica e também às propriedades particulares do produto (RANADHEERA et al., 2012). A sobrevivência de micro-organismos probióticos em alimentos está intimamente relacionada com as suas propriedades (concentração e tipo de proteínas, teor de gordura, oxigênio dissolvido, valores de pH, entre outros) e com as condições de estocagem do alimento. O queijo tipo Mascarpone proporciona um ambiente adequado para a sobrevivência de bactérias probióticas, uma vez que possui um alto teor de lipídios e valores favoráveis de pH. Outros autores também relataram uma satisfatória viabilidade de probióticos quando introduzidos em queijos frescos (ALVES et al., 2013, FRITZEN-FREIRE et al., 2010, CARDARELLI et al., 2008, BURITI et al., 2005), corroborando o uso deste tipo de queijo como um bom veículo para adição de culturas probióticas.

Além disso, as amostras de queijos possuem caseína na formulação, e apesar de o conceito de prebióticos se restringir a ingredientes seletivamente fermentáveis, as proteínas do leite (como a

caseína), quando adicionadas conjuntamente aos probióticos em alimentos, auxiliam na multiplicação e/ou manutenção da viabilidade dos micro-organismos. Isso acontece porque a caseína contém nitrogênio disponível para a utilização pelos micro-organismos, encontrados em aminoaçúcares (*N*-acetilgalactosamina), que podem ser utilizados como fonte energética pelas bifidobactérias (THOMAS-WORRINGER et al., 2006).

Entre as amostras M2 e M3 foram observadas diferenças ($P < 0,05$) nos valores de células viáveis em cada um dos períodos de armazenamento avaliados. Foi possível observar que a contagem de bifidobactérias da amostra M3 (contendo bifidobactéria e inulina) foi superior ($P < 0,05$) em relação à amostra M2 (contendo apenas bifidobactéria) nos dias 1 e 30 de armazenamento. De forma semelhante, Özer et al. (2005) observaram um aumento na viabilidade de *Bifidobacterium bifidum* em iogurte suplementado com inulina a 0,5% e a 1,0% (m/v). Este resultado se deve provavelmente ao fato de que os frutanos do tipo inulina são conhecidos pelo seu chamado efeito bifidogênico, ou seja, a sua capacidade de aumentar seletivamente o número de bifidobactérias no cólon humano, uma vez que elas são capazes de utilizar a inulina como fonte de energia (MAKRAS; VAN ACKER; DE VUYST, 2005).

Os prebióticos do tipo frutano (inulina) podem também contribuir para a sobrevivência de micro-organismos probióticos durante o processamento e armazenagem de produtos lácteos, aumentando ou, ao menos, mantendo a viabilidade de *Bifidobacterium* spp. (BRUNO; LANKAPUTHRA; SHAH, 2002; ÖZER; AKIN; ÖZER, 2005; ALVES et al., 2013). Resumidamente, a frutose liberada a partir da hidrólise parcial catalisada por inulinase pode ser metabolizada como fonte de carbono e energia (MAYO et al., 2010). Bifidobactérias são capazes de utilizar e absorver os monômeros obtidos a partir da hidrólise da inulina, através da derivação de frutose-6-fosfato (McKELLAR; MODLER, 1989; THARMARAJ; VAN DER MEULLEN et al., 2006).

Desta forma, os resultados das análises microbiológicas sugerem que o queijo tipo Mascarpone desenvolvido neste estudo é uma matriz adequada para a incorporação de bactérias probióticas (particularmente *Bifidobacterium* BB-12).

Tabela 1 - Contagem de células viáveis de *Bifidobacterium* BB-12 (log UFC/g) nas amostras M2 e M3 de queijo tipo Mascarpone durante 30 dias de armazenamento a 5 °C. Valores médios \pm desvio padrão.

Dias de armazenamento	Amostras	
	M2	M3
1	8,09 \pm 0,03 ^{Ab}	8,83 \pm 0,01 ^{Aa}
30	7,57 \pm 0,04 ^{Bb}	7,94 \pm 0,05 ^{Ba}

^{A,B} Letras maiúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças ($p < 0,05$) estudadas para cada amostra de queijo entre os períodos de armazenamento. ^{a,b} Letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) para o mesmo período de armazenamento entre as amostras estudadas. M2: queijo tipo Mascarpone adicionado de *Bifidobacterium* BB-12. M3: queijo tipo Mascarpone contendo *Bifidobacterium* BB-12 e 1,0% de inulina (m/v). (n=3)

3.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Os valores encontrados para o rendimento e para os parâmetros físico-químicos das amostras M1, M2 e M3 estão apresentados na Tabela 2. Os resultados demonstram que não houve diferenças ($P > 0,05$) entre as formulações, tampouco alterações durante o armazenamento dos queijos, indicando que a adição de bifidobactéria e inulina não afetou significativamente estes parâmetros. Entretanto, quando comparados com a literatura, estes resultados apresentam teores diferenciados de gordura e de proteína. Foi possível constatar que o teor de gordura ($\geq 40,0\%$) e o teor de proteína ($\geq 4,0\%$) são inferiores aos encontrados por Andreout (1984), Battistotti et al (1985), Courtine (1973), Delforno (1981), Resmini (1984) e Savini (1950). Este fato se deve, provavelmente, aos diferentes teores de gordura encontrados nas matérias primas empregadas na fabricação dos queijos. O teor de gordura encontrado no queijo tipo Mascarpone do presente estudo está diretamente relacionado à quantidade de gordura inicial no creme de leite utilizado (30% de gordura). Já o teor de proteína está relacionado à tecnologia de fabricação dos queijos, que, em alguns casos, são adicionados de leite desnatado para aumentar a quantidade de proteínas (responsáveis pela coagulação). Neste trabalho, foi utilizado apenas creme de leite e 1,5% de caseína, utilizada para auxiliar na coagulação do produto, responsável, então, pelo percentual de proteínas encontrado nos queijos avaliados.

Tabela 2- Rendimento e composição físico-química das amostras de queijo tipo Mascarpone durante 30 dias de armazenamento a 5 ° C. Resultados expressos como média \pm desvio-padrão.

Amostras	Dias	Rendimento	Lipídios (m/m%)	Proteína (m/m%)	Cinzas (m/m%)	Umidade (m/m%)
M1	1	67,63 ^a \pm 0,54	40,07 \pm 0,11 ^{Aa}	4,05 \pm 0,04 ^{Aa}	0,33 \pm 0,02 ^{Aa}	53,48 \pm 0,04 ^{Aa}
	30	-	40,15 \pm 0,07 ^{Aa}	4,07 \pm 0,03 ^{Aa}	0,34 \pm 0,03 ^{Aa}	53,47 \pm 0,15 ^{Aa}
M2	1	68,49 ^a \pm 0,49	40,35 \pm 0,35 ^{Aa}	4,10 \pm 0,02 ^{Aa}	0,38 \pm 0,05 ^{Aa}	53,46 \pm 0,10 ^{Aa}
	30	-	40,00 \pm 0,14 ^{Aa}	4,13 \pm 0,05 ^{Aa}	0,37 \pm 0,04 ^{Aa}	53,44 \pm 0,04 ^{Aa}
M3	1	68,31 ^a \pm 0,47	40,12 \pm 0,52 ^{Aa}	4,14 \pm 0,03 ^{Aa}	0,48 \pm 0,08 ^{Aa}	53,47 \pm 0,06 ^{Aa}
	30	-	40,31 \pm 0,55 ^{Aa}	4,11 \pm 0,02 ^{Aa}	0,48 \pm 0,06 ^{Aa}	53,44 \pm 0,05 ^{Aa}

^{A,B} Letras maiúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os períodos de armazenamento para cada amostra estudada e para cada uma das análises. ^{a,b,c} Letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças ($p < 0,05$) entre as amostras de queijo tipo Mascarpone estudadas para o mesmo período de armazenamento.

M1: queijo tipo Mascarpone sem adição de bifidobactéria.

M2: queijo tipo Mascarpone adicionado de *Bifidobacterium* BB-12

M3: queijo tipo Mascarpone contendo *Bifidobacterium* BB-12 e 1,0% de inulina (m/v). (n = 3)

Os resultados referentes à acidez titulável, pH e capacidade de retenção de água (CRA) para as amostras de queijo tipo Mascarpone durante a estocagem são apresentados na Tabela 3.

Foi possível observar um aumento ($P < 0,05$) dos valores de acidez titulável acompanhado de uma redução ($P < 0,05$) do pH durante o armazenamento ($5 \pm 1^\circ \text{C}$) para todas as amostras de queijo. A redução dos valores de pH e aumento da acidez observados durante a estocagem de queijos frescos cremosos é um processo natural ocasionado pela contínua produção de ácido lático, ácido acético e outros ácidos orgânicos, produzidos devido ao metabolismo das culturas lácticas e/ou probióticas adicionadas. O pH afeta a estrutura e as propriedades de textura dos queijos, presumivelmente porque afeta fortemente as interações químicas entre os componentes estruturais (proteínas, água e minerais) do produto (BURITI et al., 2007; GRATTEPANACHE et al., 2008).

A alta capacidade de retenção de água (CRA) das amostras de queijo tipo Mascarpone era esperada, uma vez que está relacionada ao alto teor de gordura do queijo. De acordo com Dejmek e Walstra (2004), a presença de gordura diminui a interação entre as proteínas, que promove menor exsudação do soro. Entretanto, foram observadas reduções ($P < 0,05$) nos valores da CRA durante o tempo de estocagem, para todas as amostras de queijo. Essa diminuição da capacidade de retenção de água com o passar do tempo pode estar relacionada com a diminuição do pH das amostras ao longo deste período, o que faz com que a interação entre a proteína e a água livre diminua, diminuindo a retenção do soro pela matriz. A redução do pH também está associada à diminuição das cargas negativas, o que favorece a formação de aglomerados de glóbulos de gordura, gerando uma maior expulsão do soro. Além disso, devido às baixas temperaturas durante a refrigeração, também há a interação entre os glóbulos de gordura gerando a coalescência e uma maior expulsão do soro (HUI, 1996).

Entretanto, para a amostra M3, a adição de inulina resultou numa menor sinerese da matriz do queijo em relação às outras amostras, nos dois períodos de armazenamento avaliados (Tabela 3). Esse fenômeno ocorreu devido à presença de inulina na formulação. Segundo Fadei et al. (2012), a inulina possui uma excelente capacidade de retenção de água, capaz de inibir a sinerese em queijos frescos e cremosos. Estudos anteriores também investigaram a influência da adição de inulina em leite (ARANGO; TRUJILLO; CASTILLO, 2013), iogurte (AL-SHERAJI et al., 2012) e queijos (GIRI; KANAWJIA; KHETRA, 2014), e concluíram que o sistema formado por proteína-inulina possui boas

propriedades gelificantes e de aprisionamento de moléculas de água, resultando em uma textura suave e cremosa (BOT et al., 2004).

Tabela 3 - Acidez titulável (% ácido láctico), pH e capacidade de retenção de água (CRA) (% m/m) das amostras de queijo tipo Mascarpone durante 30 dias de armazenamento a 5 °C. Valores médios \pm desvio padrão.

Amostras	Dias	Acidez titulável (% ácido láctico)	pH	CRA (% m/m)
M1	1	$0,32 \pm 0,03^{Bb}$	$5,74 \pm 0,01^{Aa}$	$94,73 \pm 0,35^{Ab}$
	30	$0,37 \pm 0,01^{Aa}$	$5,50 \pm 0,01^{Ba}$	$91,40 \pm 0,36^{Bb}$
M2	1	$0,34 \pm 0,01^{Bb}$	$5,69 \pm 0,01^{Ab}$	$92,37 \pm 0,47^{Ac}$
	30	$0,37 \pm 0,01^{Aa}$	$5,45 \pm 0,01^{Bb}$	$89,80 \pm 0,42^{Bb}$
M3	1	$0,36 \pm 0,01^{Ba}$	$5,66 \pm 0,01^{Ab}$	$96,73 \pm 0,15^{Aa}$
	30	$0,38 \pm 0,01^{Aa}$	$5,41 \pm 0,01^{Bc}$	$95,60 \pm 0,40^{Ba}$

^{A,B} Letras maiúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os períodos de armazenamento para cada amostra estudada e para cada uma das análises. ^{a,b,c} Letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças ($p < 0,05$) entre as amostras de queijo tipo Mascarpone estudadas para o mesmo período de armazenamento.

M1: queijo tipo Mascarpone sem adição de bifidobactéria.

M2: queijo tipo Mascarpone adicionado de *Bifidobacterium* BB-12

M3: queijo tipo Mascarpone contendo *Bifidobacterium* BB-12 e 1,0% de inulina (m/v). (n = 3)

3.3 ANÁLISE INSTRUMENTAL DE TEXTURA

Os parâmetros de textura para as amostras de queijo tipo Mascarpone após o dia 1 e dia 30 de estocagem sob refrigeração estão expostos na Tabela 4.

Para todas as amostras, foi observado um aumento ($P < 0,05$) na firmeza e na adesividade durante o tempo de estocagem. O aumento da firmeza pode ser explicado pela concomitante redução do pH das amostras. À medida que o pH diminui, as interações proteína-água diminuem, o que gera uma expulsão progressiva de soro da rede de caseína, e consequentemente, uma maior firmeza do produto. É possível que com a redução do pH do queijo tenha ocorrido o espessamento dos filamentos da matriz protéica, devido à maior agregação e fusão das partículas de caseína, corroborando com o aumento da firmeza do queijo (MONTEIRO et al., 2009).

A adição de inulina resultou em um aumento ($P < 0,05$) superior da firmeza da amostra M3 em relação às outras duas amostras. Segundo

Murphy (2001), mesmo em baixas concentrações, a inulina é capaz de modificar a textura dos produtos através da interação com a água presente no queijo e causar uma certa gelificação no produto. Schaller-Povolny e Smith (2002) e Glibowski e Bochynska (2006) estudaram a relação entre algumas proteínas do leite e a inulina, e relataram que essa interação pode estar relacionada com o aumento da viscosidade do gel formado.

As amostras de queijo tipo Mascarpone também apresentaram um aumento ($P < 0,05$) da adesividade ao longo do armazenamento. Resultados similares foram relatados por Buriti et al. (2008), que verificaram que a adesividade de queijos frescos aumentou durante as duas primeiras semanas de estocagem. Fritzen-Freire et al. (2013) também obtiveram resultados semelhantes em creme de ricota adicionado de probiótico microencapsulado com inulina. Este resultado pode estar relacionado à exsudação do soro da matriz, levando à uma relativa concentração de sólidos presentes no queijo e apresentando uma tendência à maior associação com a superfície do probe no texturômetro (MAGENIS et al., 2005).

Entretanto, para o parâmetro de elasticidade não foram encontradas diferenças significativas ($P > 0,05$) durante o período de estocagem. Gallina et al. (2008) reportaram que a elasticidade depende da estrutura e do rearranjo entre as moléculas de proteína, as quais podem sofrer alterações durante o armazenamento, porém, essas mudanças se tornam mais perceptíveis após 150 dias de estocagem. Dessa forma, como as amostras de queijo tipo Mascarpone neste estudo foram armazenadas por apenas 30 dias, tais diferenças não foram detectadas ($P > 0,05$).

Tabela 4 - Perfil de textura das amostras de queijo tipo Mascarpone durante 30 dias de armazenamento a 5 °C. Resultados expressos como média \pm desvio-padrão.

Amostras	Dias	Firmeza (N)	Adesividade (N.s)	Elasticidade
M1	1	0,74 \pm 0,13 ^{Bb}	3,60 \pm 0,39 ^{Ba}	1,07 \pm 0,03 ^{Aa}
	30	1,10 \pm 0,08 ^{Ab}	5,07 \pm 1,20 ^{Aa}	1,07 \pm 0,03 ^{Aa}
M2	1	0,65 \pm 0,08 ^{Bb}	1,18 \pm 0,02 ^{Bb}	1,06 \pm 0,03 ^{Aa}
	30	0,97 \pm 0,08 ^{Ab}	2,78 \pm 0,48 ^{Ab}	1,06 \pm 0,03 ^{Aa}
M3	1	1,23 \pm 0,04 ^{Ba}	3,57 \pm 0,17 ^{Ba}	1,05 \pm 0,01 ^{Aa}
	30	1,49 \pm 0,06 ^{Aa}	5,97 \pm 0,60 ^{Aa}	1,05 \pm 0,01 ^{Aa}

^{A,B} Letras maiúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os períodos de armazenamento para cada amostra estudada e para cada uma das análises. ^{a,b} Letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças ($p < 0,05$) entre as amostras de queijo tipo Mascarpone estudadas para o mesmo período de armazenamento.

M1: queijo tipo Mascarpone sem adição de bifidobactéria.

M2: queijo tipo Mascarpone adicionado de *Bifidobacterium* BB-12

M3: queijo tipo Mascarpone contendo *Bifidobacterium* BB-12 e 1,0% de inulina (m/v). (n = 3)

3.4 ANÁLISE DE COR

Os parâmetros de cor para as amostras de queijo tipo Mascarpone durante a estocagem se encontram na Tabela 5. Foi possível notar que não houve diferenças significativas ($P > 0,05$) nos valores dos parâmetros L^* e a^* entre os dias 1 e 30 de armazenamento para cada amostra e entre as diferentes formulações de queijo. O parâmetro L^* , referente à luminosidade, apresentou altos valores para todas as amostras e se manteve estável ($P > 0,05$) durante toda a estocagem. De acordo com Nozière et al. (2006), a cor branca do leite é resultado da dispersão das micelas de caseína e fosfato de cálcio, e glóbulos de gordura, os quais são responsáveis pela difusão da luz incidente, com maior reflectância, o que consequentemente eleva os valores de L^* .

O mesmo comportamento foi observado para o parâmetro a^* , não sendo observadas diferenças ($P > 0,05$). Devido ao fato de os valores de a^* se apresentarem negativos, as amostras demonstraram tendência à coloração verde. De acordo com Prudêncio et al. (2014), estes resultados ocorreram provavelmente devido à presença de riboflavina no leite, uma

vez que esta é responsável pela coloração ligeiramente verde nos queijos.

Os valores de b^* se apresentaram positivos e aumentaram ($P < 0,05$) em todas as amostras de queijo após os 30 dias de estocagem, revelando um aumento da coloração amarela ao longo do armazenamento. Isto pode ocorrer devido ao teor e composição da gordura do leite (CHILLIARD et al., 2001) e a fração de micronutrientes solúveis em gordura de produtos lácteos, em particular, β -caroteno, vitaminas A e E (MARTIN et al., 2004). Além disso, este fato também pode ser também relacionado à uma possível oxidação de lipídios durante o armazenamento, gerando a formação de compostos intermediários que promovem a alteração de cor e um aumento da coloração amarela (MATHIAS et al., 2010). Um aumento da tonalidade amarela (b^*) ao final do período de estocagem foi também relatado por Fritzen-Freire et al. (2013) em creme de ricota probiótico.

A diferença total de cor (ΔE^*) observada para cada amostra entre os dias 1 e 30 de armazenamento apresentou valores abaixo de 1, o que significa que a diferença de cor das amostras não pode ser percebida pelo olho humano, como descrito por Martinez-Cervera et al. (2011).

Tabela 5 - Parâmetros de cor das amostras de queijo tipo Mascarpone.

Amostras	Dias	L*	a*	b*	ΔE^*
M1	1	88,16 \pm 0,17 ^{Aa}	- 3,94 \pm 0,10 ^{Aa}	30,01 \pm 0,20 ^{Ba}	-
	30	88,10 \pm 0,02 ^{Aa}	- 3,93 \pm 0,16 ^{Aa}	30,32 \pm 0,06 ^{Aa}	0,05
M2	1	88,23 \pm 0,41 ^{Aa}	- 3,95 \pm 0,12 ^{Aa}	30,00 \pm 0,04 ^{Ba}	-
	30	88,04 \pm 0,06 ^{Aa}	-3,84 \pm 0,03 ^{Aa}	30,34 \pm 0,06 ^{Aa}	0,08
M3	1	87,77 \pm 0,45 ^{Aa}	-3,96 \pm 0,16 ^{Aa}	30,02 \pm 0,04 ^{Ba}	-
	30	87,85 \pm 0,22 ^{Aa}	-3,78 \pm 0,02 ^{Aa}	30,37 \pm 0,08 ^{Aa}	0,08

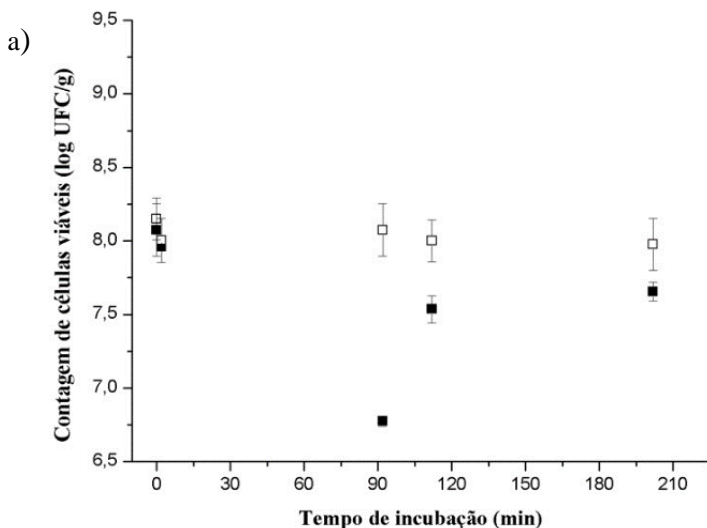
^{A,B} Letras maiúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os períodos de armazenamento para cada amostra estudada e para cada uma das análises. ^{a,b,c} Letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças ($p < 0,05$) entre as amostras de queijo tipo Mascarpone estudadas para o mesmo período de armazenamento. M1: queijo tipo Mascarpone sem adição de bifidobactéria.

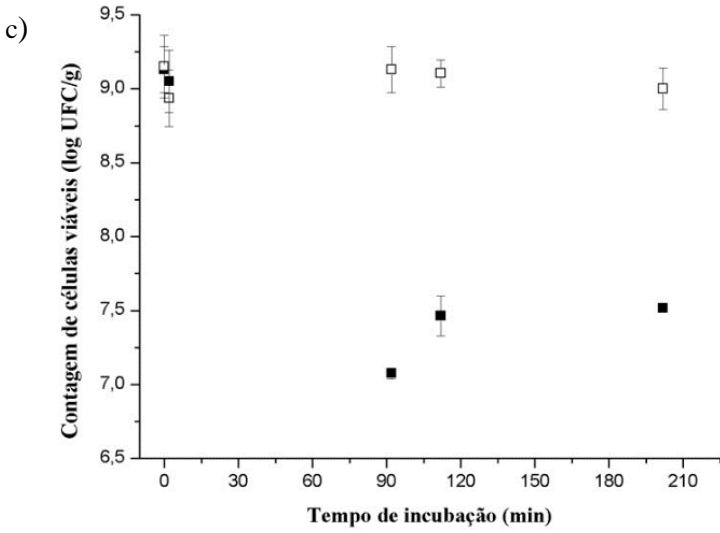
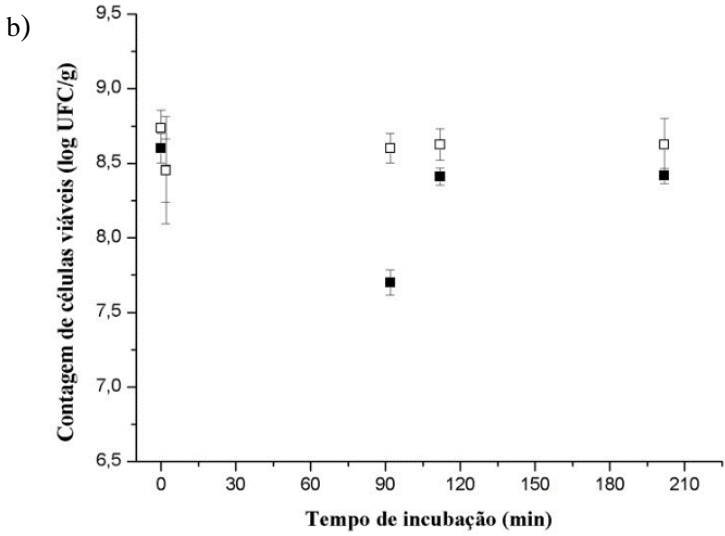
M2: queijo tipo Mascarpone adicionado de *Bifidobacterium* BB-12. M3: queijo tipo Mascarpone contendo *Bifidobacterium* BB-12 e 1,0% de inulina (m/v). (n=3)

3.5 SIMULAÇÃO GASTROINTESTINAL *IN VITRO*

Os resultados das contagens de células probióticas viáveis no queijo tipo Mascarpone adicionado de bifidobactéria (C5), no queijo tipo Mascarpone adicionado de bifidobactéria e inulina (C6) e no caldo MRS (B3), após a exposição das amostras às condições de simulação gastrointestinal, estão apresentadas na Figura 2, enquanto que as taxas de sobrevivência (%) após cada etapa da simulação gastrointestinal *in vitro* encontram-se na Tabela 6.

Figura 2 - Contagem de células viáveis (média \pm desvio padrão) de *Bifidobacterium* BB-12, após cada etapa das condições gastrointestinais simuladas para: (a) C3 - amostra de queijo adicionado de bifidobactéria não exposto às condições gastrointestinais simuladas (\square) e C5 - amostra de queijo adicionado de bifidobactéria exposto às condições gastrointestinais simuladas (\blacksquare); (b) C4 - amostra de queijo adicionado de bifidobactéria e inulina não exposto às condições gastrointestinais simuladas (\square) e C6 - amostra de queijo adicionado de bifidobactéria e inulina exposto às condições gastrointestinais simuladas (\blacksquare); e (c) B2 - caldo MRS inoculado com bifidobactéria não exposto às condições gastrointestinais simuladas (\square) e B3 - caldo MRS inoculado com bifidobactéria exposto às condições gastrointestinais simuladas (\blacksquare).





Fonte: acervo do autor

Tabela 6 - Taxa de sobrevivência (%) de *Bifidobacterium* BB-12 nas amostras de queijo tipo Mascarpone (C5 e C6) e no caldo MRS (B3) após cada etapa das condições gastrointestinais simuladas.

Etapas	Amostras		
	B3 (Caldo)	C5 (Queijo)	C6 (Queijo)
Inicial	-	-	-
Boca	99,12 ± 0,63 ^{Aa}	98,60 ± 2,33 ^{Aa}	98,30 ± 3,06 ^{Aa}
Esôfago-estômago	77,50 ± 0,93 ^{Bb}	83,93 ± 2,28 ^{Ab}	89,54 ± 0,04 ^{Ab}
Duodeno	81,76 ± 0,08 ^{Bb}	93,35 ± 3,18 ^{Aab}	97,80 ± 1,78 ^{Aa}
Íleo	82,32 ± 1,17 ^{Bb}	94,83 ± 2,86 ^{Aab}	97,85 ± 0,55 ^{Aa}

B3: amostra de caldo MRS adicionado de bifidobactéria exposta às condições de simulação gastrointestinal.

C5: amostra de queijo adicionado de bifidobactéria exposta às condições de simulação gastrointestinal.

C6: amostra de queijo adicionado de bifidobactéria e inulina exposta às condições de simulação gastrointestinal.

A-B Letras maiúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre cada etapa das condições gastrointestinais simuladas para a mesma amostra.

a-b Letras minúsculas sobrescritas na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as amostras para cada etapa das condições de simulação gastrointestinal.

No início da simulação gastrointestinal *in vitro* (tempo zero, antes da exposição às condições experimentais da boca), a contagem de células viáveis de bifidobactérias incorporadas às amostras C5 e C6 foi igual a 8,07 e 8,60 log UFC/g, respectivamente, enquanto que para o caldo MRS este valor foi igual a 9,01 UFC/g. Ao final da simulação das etapas de simulação gastrointestinal, foi observada uma redução do número de células viáveis, onde as amostras C5, C6 e B3 apresentaram contagens de 7,65, 8,42 e 7,51 log UFC/g, respectivamente. . Todas as amostras apresentaram níveis de contagem de células viáveis superior ao mínimo requerido para um alimento ser considerado probiótico no momento da ingestão do alimento para assegurar o efeito benéfico sob a saúde do consumidor (OLIVEIRA et al., 2014).

Após a exposição da etapa da boca, a contagem de células viáveis (Figura 2) e a taxa de sobrevivência da bifidobactéria (Tabela 6) das amostras B3, C5 e C6 não foram afetadas ($P > 0,05$). Como relatado por Pinto et al. (2015), a manutenção da viabilidade probiótica após esta etapa é provavelmente relacionada com o curto tempo de contato com a

enzima α -amilase e também à capacidade de tamponamento do bicarbonato de sódio presente na solução salivar.

Por outro lado, após a exposição às condições de simulação do esôfago-estômago, o número de células viáveis e a taxa de sobrevivência probiótica diminuíram para as amostras B3, C5 e C6 ($P < 0,05$), indicando a sensibilidade do micro-organismo em relação ao baixo valor de pH alcançado no estômago. Como ocorrido no estômago humano, nesta etapa o pH foi diminuído gradualmente e a solução de pepsina foi adicionada para simular o suco gástrico. A exposição à etapa do esôfago-estômago exerceu um efeito mais drástico sobre a bifidobactéria incorporada ao caldo MRS (B3), com uma redução de cerca de 2,0 ciclos logarítmicos. Por outro lado, as amostras C5 e C6 sofreram uma redução de 1,3 e 0,9 ciclos log, respectivamente, no número de células viáveis em relação ao início do processo (etapa da boca). Essa menor redução no número de células viáveis de bifidobactéria nas amostras de queijo, em relação ao caldo MRS, se deve provavelmente à capacidade tamponante, o alto teor de gordura e a densa matriz do queijo, que oferecem uma proteção adicional à bactéria probiótica no estômago (BERGAMINI et al., 2005).

A habilidade de tolerar o estresse digestivo é uma das características mais importantes de probióticos a serem incorporados com sucesso em alimentos (MEIRA et al., 2015). Schillinger, Guigas e Holzapfel (2005) relataram que seis diferentes cepas probióticas isoladas em iogurtes probióticos comerciais foram capazes de sobreviver durante 90 minutos em uma solução tampão gástrica contendo pepsina a pH 2,0, com reduções de contagem variando de 0,1 a 2,5 ciclos logarítmicos durante este período. Verruck et al. (2015) também relataram comportamento similar ao deste estudo em relação à redução das taxas de sobrevivência de bifidobactérias adicionadas em queijo tipo Minas Frescal de búfala e caldo MRS após a exposição à etapa do esôfago-estômago.

Posteriormente, na etapa do duodeno (saís biliares, pancreatina e pH 5,0), a contagem de células viáveis de *Bifidobacterium* BB-12, bem como a taxa de sobrevivência da bactéria, aumentaram ligeiramente ($P < 0,05$) para o caldo MRS (B3) e para as amostras de queijo C5 e C6. De acordo com Madureira et al. (2011), o aumento na taxa de sobrevivência observado nas amostras pode estar relacionado à uma recuperação de células injuriadas nas etapas anteriores. O aumento do pH para 5,0, que ocorre na etapa referente ao duodeno, pode ser uma condição favorável para a sobrevivência das bifidobactérias (BOYLSTON et al., 2004). Neste estudo, a matriz do queijo tipo Mascarpone aparentemente

protegeu as células probióticas dos sais biliares, uma vez que alguns componentes dos alimentos podem ligar-se aos sais biliares, protegendo a bactéria probiótica da toxicidade dos sais (BEGLEY; GAHAN; HILL, 2005). A matriz do queijo tipo Mascarpone também proporciona proteção aos probióticos através da redução da exposição dos mesmos ao ambiente gastrointestinal, devido ao alto teor de gordura presente neste queijo, que demonstra um bom efeito protetor aos probióticos durante a passagem pelo trato gastrointestinal (STANTON et al., 1998; VALERIO et al., 2006).

Após a etapa de simulação do íleo, não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) para as taxas de sobrevivência das bifidobactérias nas amostras B3, C5 e C6. Entretanto, as amostras C5 e C6 retornaram aos valores iniciais ($P > 0,05$) de células viáveis de bifidobactéria, tais como encontrados na etapa da boca. Esse comportamento pode ser explicado pelo pH neutro (em torno de 6,5) que prevalece nesta etapa, onde ainda pode ocorrer recuperação de células injuriadas de bifidobactéria (MADUREIRA et al., 2011). O efeito protetor na sobrevivência de bifidobactérias também pode ser atribuído à alta capacidade tamponante, o alto teor de gordura presente no queijo tipo Mascarpone e sua matriz densa, os quais podem aumentar a sobrevivência das bactérias no esôfago-estômago, duodeno e íleo (CRUZ et al., 2009). O alto percentual de gordura do queijo tipo Mascarpone em relação a outros queijos pode ter sido o fator determinante para a alta proteção dos probióticos às condições de exposição ao ácido clorídrico e sais biliares no presente estudo. Enquanto isso, para a amostra de caldo MRS (B3), o valor final da contagem de células viáveis sofreu redução ($P < 0,05$) em relação ao início do processo de simulação gastrointestinal, resultado da redução da sobrevivência das bifidobactérias no caldo ao final do processo.

As taxas de sobrevivência da bifidobactéria não diferiram ($P > 0,05$) entre as amostras de queijo (C5 e C6), indicando que a inulina não foi o fator preponderante na sobrevivência das bifidobactérias durante o processo, e sim, a matriz do queijo. Os resultados obtidos após a simulação gastrointestinal corroboram para o efeito protetor da matriz do queijo (amostras C5 e C6), uma vez que foram observadas diferenças ($P < 0,05$) na contagem de células viáveis em relação à amostra de caldo MRS (B3), durante as etapas do esôfago-estômago, duodeno e íleo. Madureira et al. (2011) testaram a adição de *Bifidobacterium animalis* em caldo MRS e em queijo ricota, ambos submetidos à simulação gastrointestinal, e os autores concluíram que a bifidobactéria foi mais resistente às etapas digestivas quando adicionada na matriz do queijo.

Ao fim do processo, as contagens de células viáveis foram superiores a 6 log UFC/g para as amostras de queijo tipo Mascarpone (C5 e C6), uma vez que o alto teor de gordura promoveu a proteção da bifidobactéria durante a exposição às condições gastrointestinais. Dessa forma, o queijo demonstrou eficácia como um bom protetor para sobrevivência de *Bifidobacterium* BB-12 durante as sucessivas etapas da digestão simulada, e assim, pode ser considerado como uma matriz eficaz à incorporação de culturas probióticas.

4 CONCLUSÕES

Este trabalho demonstrou que a incorporação de *Bifidobacterium* BB-12 em queijo tipo Mascarpone foi efetiva. Os queijos M2 e M3 apresentaram contagem de células viáveis de bifidobactéria acima dos níveis recomendados ($> 6 \log \text{ UFC/g}$) para serem considerados probióticos, nos dias 1 e 30 de armazenamento. No entanto, foi observado um número maior ($P < 0,05$) de células viáveis para a amostra contendo inulina (M3), sugerindo o efeito bifidogênico do prebiótico. Com relação ao rendimento e aos parâmetros físico-químicos, não foram observadas diferenças em nenhuma das formulações de queijo, tampouco durante o período de estocagem. Todas as amostras apresentaram de forma simultânea um aumento da acidez titulável e decréscimo no pH durante o armazenamento. A diminuição do pH das amostras resultou em uma menor interação proteína-água, levando à exsudação progressiva do soro da matriz. Em todos os queijos foi possível observar diminuição ($P < 0,05$) na capacidade de retenção de água durante o armazenamento, entretanto, os valores deste parâmetro foram maiores para a amostra contendo inulina (M3). Foi constatado um aumento nos valores da firmeza e adesividade para todas as amostras de queijo ao final do período de armazenamento. De forma geral, foi verificado que a adição de inulina conferiu maior firmeza ao queijo. Na análise instrumental de cor, não houve diferença significativa entre as amostras e entre os dias para o parâmetro L^* e o parâmetro a^* (que indicou tendência à cor verde), porém foi observada uma tendência ao aumento da coloração amarela (b^*) após 30 dias de estocagem em todas as amostras. Após a simulação gastrointestinal *in vitro*, foi comprovado o esperado efeito protetor do queijo sobre as células de *Bifidobacterium* BB-12, uma vez que as contagens de células viáveis retornaram aos valores iniciais ($P < 0,05$) e apresentaram valores semelhantes às da etapa da boca. Além disso, a taxa de sobrevivência da bifidobactéria nos queijos foi superior ($P < 0,05$) à observada na amostra de caldo MRS. Também foi constatado que não houve diferenças significativas ($P > 0,05$) na taxa de sobrevivência entre as amostras de queijo com e sem adição de inulina, demonstrando que a inulina não foi o fator determinante a influenciar na sobrevivência da bactéria durante a passagem pelo trato gastrointestinal, confirmando novamente o efeito protetor da matriz. Assim, o queijo tipo Mascarpone desenvolvido neste trabalho demonstrou ser uma matriz eficaz na proteção de probióticos e um veículo adequado para a incorporação de *Bifidobacterium* BB-12.

REFERÊNCIAS

- AL-SHERAJI, S. H.; ISMAIL, A.; MANAP, M. Y.; MUSTAFA, S.; YUSOF, R. M. Viability and activity of bifidobacteria during refrigerated storage of yoghurt containing *Mangifera pajang* fibrous polysaccharides. **Journal of Food Science**, v. 77, p. 624-630, 2012.
- ALVES, L. L. et al. Cream cheese as a symbiotic food carrier using *Bifidobacterium animalis* Bb-12 and *Lactobacillus acidophilus* La-5 and inulin. **International Journal of Dairy Technology**, v. 66, p. 63-69, 2013.
- ANONYMOUS (1998). Mascarpone cheese. Definition of specificity, composition, characteristics. Norma italiana UNI 10710. Italian Institute for Standardization (U.N.I.)
- ARAGON-ALEGRO, L. C. et al. Probiotic and symbiotic chocolate mousse. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, p. 669-675, 2007.
- ARANGO, O.; TRUJILLO, A.; CASTILLO, M. Influence of fat replacement by inulin on rheological properties, kinetics of rennet milk coagulation, and syneresis of milk gels. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 1984-1996, 2013.
- ARUNACHALAM, K. D. Role of bifidobacteria in nutrition, medicine and technology. **Nutrition Research**, v. 19, p. 1559-1597, 1999.
- BEGLEY, M.; GAHAN, C. G. M.; HILL, C. The interaction between bacteria and bile. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 29, p. 625-651, 2005.
- BERGAMINI, C. et al. Probiotic bacteria as adjunct starters: influence of the addition methodology on their survival in a semi-hard Argentinean cheese. **Food Research International**, v. 38, p. 597-604, 2005.
- BLANCHETTE, L.; ROY, D.; GAUTHIER, S. F. Production of cultured cottage cheese dressing by bifidobacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 1421-1429, 1995.
- BOYLSTON, T. D. et al. Incorporation of bifidobacteria into cheeses: challenges and rewards. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 375-387, 2004.

- BRUNO, A.; LANKAPUTHRA, W.E.V.; SHAH, N.P. Growth, viability and activity of *Bifidobacterium* spp. in skim milk containing prebiotics. **Journal of Food Science**, v. 67, p. 2740–2744, 2002.
- BOT, A. et al. Influence of crystallisation conditions on the large deformation rheology of inulin gels. **Food Hydrocolloids**, v. 18, p. 547–556, 2004.
- BURITI, F.C.A. et al. Probiotic potential of Minas fresh cheese prepared with the addition of *Lactobacillus paracasei*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 38, p. 173–180, 2005.
- BURITI, F.C.A.; CARDARELLI, H.R.; SAAD, S.M.I. Biopreservation by *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophilus* in potentially probiotic and synbiotic fresh cream–cheeses. **Journal of Food Protection**, v. 70, p. 228–235, 2007.
- BURITI, F.C.A.; KOMATSU, T.R.; SAAD, S.M.I. Activity of passion fruit (*Passiflora edulis*) and guava (*Psidium guajava*) pulps on *Lactobacillus acidophilus* in refrigerated mousses. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 315–317, 2007.
- BURITI, F.C.A.; CARDARELLI, H.R.; SAAD, S.M.I. Influence of *Lactobacillus paracasei* and inulin on instrumental texture and sensory evaluation of frees cream cheese. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, p. 75–84, 2008.
- BURITI, F.C.A.; CASTRO, I.A.; SAAD, S. M.I. Viability of *Lactobacillus acidophilus* in symbiotic guava mousses and its survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v. 137, p. 121–129, 2010.
- CARDARELLI, H.R. et al. Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially symbiotic *petit-suisse* cheese. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, p. 1037–1046, 2008.
- CARMINATI, D.; PERRONE, A.; NEVIANI, E. Inhibition of *Clostridium sporogenes* growth in mascarpone cheese by co-inoculation with *Streptococcus thermophilus* under conditions of temperature abuse. **Food Microbiology**, v. 18, p. 571–579, 2001.
- CASTRO, F. P. et al. Effect of oligofructose incorporation on the properties of fermented probiotic lactic beverages. **International Journal of Dairy Technology**, v. 62, p. 68–74, 2009.

CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; DOREAU, M. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat composition and secretion, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. **Livestock Production Science**, v. 70, p. 31–48, 2001.

CHOI, S. Y. et al. N-nitrosamine inhibition by strawberry, garlic, kale, and the effects of nitrite-scavenging and N-nitrosamine formation by functional compounds in strawberry and garlic. **Food Control**, v. 18, p. 485–491, 2007.

CUNHA, C. R.; DIAS, A. I.; VIOTTO, W. H. Microstructure, texture, colour and sensory evaluation of a spreadable processed cheese analogue made with vegetable fat. **Food Research International**, v. 43, p. 723–729, 2010.

DEJMEK, P.; WALSTRA, P. The syneresis of rennet-coagulated curd. In P. F. Fox, P. L.H. McSweeney, T. M. Coganm & T. P. Guinee (Eds.), **Cheese: Chemistry, physics & microbiology – general aspects**, v. 1, p. 71–99, 2004.

GIRI, A.; KANAWJIA, S. K.; KHETRA, Y. Textural and melting properties of processed cheese spread as affected by incorporation of different inulin levels. **Food and Bioprocess Technology**, v. 7, p. 1533–1540, 2014.

GLIBOWSKI, P.; BOCHYNSKA, R. Effect of inulin on rheological properties of whey protein solutions. **Acta Agrophysica**, v. 8, p. 337–345, 2006.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: Biological, biochemical, technological, and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends in Food Science and Technology**, v. 10, p. 139–157, 1999.

GRATTEPANCHE, F., S. et al. Recent developments in cheese cultures with protective and probiotic functionalities. **Dairy Science & Technology**, v. 88, p. 421– 444, 2008.

GUO, Z.; WANG, J.; YAN, L.; CHEN, W.; LIU, X. M.; ZHANG H. P. *In vitro* comparison of probiotic properties of *Lactobacillus casei* 107 Zhang, a potential new probiotic, with selected probiotic strains. **LWT – Food Science and Technology**, v. 42, p. 1640–1646, 2009.

- FADEI, V., et al. Chemical characteristics of low-fat wheyless cream cheese containing inulin as fat replacer. **European Journal of Experimental Biology**, v. 2, p. 690–694, 2012.
- FAO/WHO. (2006). Probiotics in Food: health and nutritional properties and guidelines for evaluation. Food and Nutritional paper No.85. Rome: Food and Agriculture Organizations and the World Health Organization.
- FRITZEN-FREIRE, et al. Effect of the application of *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulated by spray drying with prebiotics on the properties of ricotta cream. **Food Research International**, v. 52, p. 50–55, 2013.
- GALLINA, D. A., et al. Influence of storage temperature on the texture profile and colour characteristics of UHT Requeijão cremoso. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, p. 169-174, 2008.
- KOLIDA, S.; GIBSON, G.R.; Symbiotics in health and disease. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 2, p. 373-393, 2011.
- LAURENT, C.; BESANCON, P.; CAPORICCIO, B. Flavonoids from a grape seed extract interact with digestive secretions and intestinal cells as assessed in an *in vitro* digestion/caco-2 cell culture model. **Food Chemistry**, v. 100, p. 1704-1712, 2007.
- LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B. C. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 1–17, 2001.
- MADUREIRA, A. R. et al. Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v. 44, p.465-470, 2011.
- MAGENIS, R.B. et al. Compositional and physical properties of yogurts manufactured from milk and whey cheese concentrated by ultrafiltration. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, p. 560-568, 2005.
- MAKRAS, L.; VAN ACKER, G.; DE VUYST, L. Lactobacillus paracasei subsp. paracasei 8700:2 degrades inulin-type fructans exhibiting different degrees of polymerization. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 11, p. 6531–6537, 2005.
- MARTIN, B., et al. Effects of grass-based diets on the content of micronutrients and fatty acids in bovine and caprine dairy products. **Grassland Science Europe**, v. 9, p. 876–886, 2004.

MARTÍN-DIANA, A.B., et al. Effect of milk fat replacement by polyunsaturated fatty acids on the microbiological, rheological and sensorial properties of fermented milks. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, p. 1599–1605, 2004.

MARTINEZ-CERVERA, S., et al. Cocoa fibre and its application as a fat replacer in chocolate muffins. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 729-736, 2011.

MARTINEZ, R.C.R., et al. In vitro evaluation of gastrointestinal survival of *Lactobacillus amylovorus* DSM 16698 alone and combined with galactooligosaccharides, milk and/or *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12. **International Journal of Food Microbiology**, v. 149, p. 152-158, 2011.

MATHIAS, S. P., et al. Alterações oxidativas (cor e lipídios) em presunto de peru tratado por Alta Pressão Hidrostática (APH). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 4, p. 852-857, 2010 .

MAYO, B. et al. Updates in metabolism of lactic acid bacteria. In F.Mozzi, R. R. Raya; G.M. Vignolo (Eds.), **Biotechnology of lactic acid bacteria: novel applications**. Iowa, EUA: Wiley-Blackwell, 2010. pp 3-33.

McKELLAR, R.C.; MODLER, H.W. Metabolism of fructo-oligosaccharides by *Bifidobacterium* spp. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 31, p. 537–541, 1989.

MEIRA, Q. G. S., et al. Effects of added *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* probiotics on the quality characteristics of goat ricotta and their survival under simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v. 76, p. 828–838, 2015.

MONTEIRO, M. L. et al. Effect of pH on microstructure and characteristics of cream cheese. **Journal of Food Science**, v. 74, p. 112–117, 2009.

MURPHY, O. Non-polyol low-digestible carbohydrates: food applications and functional benefits. **Brazilian Journal Nutrition**, v. 85, p. 47-53, 2001.

NOZIÈRE, P. et al. Carotenoids for ruminants: From forages to dairy products. **Animal Feed Science and Technology**, v. 131, p. 418–450, 2006.

OKPALA, C.; PIGGOTT, J.; SCHASCHKE, C. Influence of high-pressure processing (HPP) on physico-chemical properties of fresh cheese. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 61-67, 2010.

OLIVEIRA, M. E. G., et al. Addition of probiotic bacteria in a semihard goat cheese (coalho): Survival to simulated gastrointestinal conditions and inhibitory effect against pathogenic bacteria. **Food Research International**, v. 64, p. 241–247, 2014.

ÖZER, D.; AKIN, S.; ÖZER, B. Effect of inulin and lactulose on survival of *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-02 in acidophilus-bifidus yoghurt. **Food Science and Technology International**, v. 11, p. 19–24, 2005.

PINTO, S. S., et al. Influence of microencapsulation with sweet whey and prebiotics on the survival of *Bifidobacterium* BB-12 under simulated gastrointestinal conditions and heat treatments. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, p. 1004-1009, 2015.

ROBINSON, R. K.; SAMONA, A. Health aspects of ‘bifido’ products: A review. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 43, p. 175–180, 1992.

SAARELA, M., et al. Stability and functionality of freeze-dried probiotic *Bifidobacterium* cells during storage in juice and milk. **International Dairy Journal**, v. 16, p. 1477–1482, 2006.

SCHALLER-POVOLNY, L. A.; SMITH, D. E. Interaction of milk proteins with inulin. **Milchwissenschaft Milk Science International**, v. 57, n. 9-10, p. 494-497, 2002.

SCHILLINGER, U., GUIGAS, C.; HOLZAPFEL, H. *In vitro* adherence and other properties of lactobacilli used in probiotic yoghurt-like products. **International Dairy Journal**, v. 15, p. 1289–1297, 2005.

SHAH, N. P. *Bifidobacterium* spp.: Applications in Fermented Milks. In: FUQUAY, J. W.; FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. (Eds.), **Encyclopedia of Dairy Sciences**, Academic Press, San Diego, California, 2011. pp. 685-697.

SHARP, M.D.; McMAHON, D.J.; BROADBENT, J.R. Comparative evaluation of yogurt and low-fat Cheddar cheese as delivery media for probiotic *Lactobacillus casei*. **Journal of Food Science**, v. 73, p. 375–377, 2008.

SODINI, I; MATTAS, J.; TONG, P.S. Influence of pH and heat treatment of whey on the functional properties of whey protein concentrates in yoghurt. **International Dairy Journal**, v. 16, p. 1464-1469, 2006.

STANTON, C., et al. (1998). Probiotic cheese. **International Dairy Journal**, 8, 491–496.

SU, P.; HENRIKSSON, A.; MITCHELL, H. Prebiotics enhance survival and prolong the retention period of specific probiotic inocula in an in vivo murine model. **Journal of Applied Microbiology**, v. 106, p. 2392-2400, 2007.

THARMARAJ, N.; SHAH, N. P. Selective enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, bifidobacteria, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, and propionibacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 2288–2296, 2003.

THOMA-WORRINGER, C.; SORENSEN, J.; LOPEZ-FANDIÑO, R. Health effects and technological features of casein macropeptide. **International Dairy Journal**, v. 16, p. 1324-1333, 2006.

VALERIO, F., et al. In vitro and in vivo survival and transit tolerance of potentially probiotic strains carried by artichokes in the gastrointestinal tract. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, p. 3042–3045, 2006.

VAN DENDER, A. G. F; MORENO, I.; GARCIA, S.; The use of buffalo's milk cream and cow's milk in the manufacturing process of mascarpone cheese. **Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 43, n. 259, p. 35-42, 1988.

VAN DER MEULLEN, R. et al. *In vitro* kinetic analysis of oligofructose consumption by *Bacteroides* and *Bifidobacterium* spp. indicates different degradation mechanisms. **Applied and Environmental Microbiology**, v.72, p.1006-1012, 2006.

VINDEROLA, C. G., et al. Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and nonprobiotic microflora in Argentinian fresco cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1905–1911, 2000.


VERRUCK, S., et al. The buffalo Minas Frescal cheese as a protective matrix of *Bifidobacterium* BB-12 under *in vitro* simulated

gastrointestinal conditions. **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, p. 1179-1183, 2015.

ANEXOS

ANEXO A– TRABALHOS APRESENTADOS EM EVENTOS

Prêmio de 2º lugar geral no SBCTA-PR de Incentivo à Pesquisa, no XIII Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos - Alimentos inovadores: desafios e oportunidades, realizado em Curitiba em 16 de outubro de 2015.



**XIII ENCONTRO REGIONAL SUL DE CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

Alimentos Inovadores; desafios e oportunidades

XIII ERSCTA


CERTIFICADO


Certificamos que o trabalho


(PD14) AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DA CULTURA DE BIFIDOBACTERIUM BB-12 EM QUEIJO TIPO MASCARPONE
 LUIZA CIRRA PEREIRA (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA), JÚLIA DOS SANTOS OPUSKI DE ALMEIDA (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA), CAROLINNE OEBRECHT DIAS (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA), SILVANI VERRUCK (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA), RENATA DIAS DE MELLO CASTANHO AMBONI (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA), ELANE SCHWINDEN PRUDÊNCIO (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA)


foi apresentado no XIII Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos, de 14 a 16 de outubro de 2015, na UFPR campus Centro Politécnico, em Curitiba (PR).


Curitiba, 16 de outubro de 2015



Prof. Dr. Renata Ernland Freitas de Macedo
Coordenadora da Comissão Científica do XIII ERSCTA



Prof. Dr. Ruperio Alves Cançado
Presidente do XIII ERSCTA


Realização



Organização









Apoio Institucional






XIII ENCONTRO REGIONAL SUL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Alimentos Inovadores: desafios e oportunidades



XIII ERSCTA

CERTIFICADO

Prêmio sbCTA-PR de Incentivo à Pesquisa
Renato João Sossela de Freitas

Certificamos que o trabalho

(PD14) AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DA CULTURA DE BIFIDOBACTERIUM BB-12 EM QUEIJO TIPO MASCARPONE de autoria de LUIZA CIRRA PEREIRA (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA), JÚLIA DOS SANTOS OPUSKI DE ALMEIDA (UFSC), CAROLINNE ODEBRECHT DIAS (UFSC), SILVANI VERRUCK (UFSC), RENATA DIAS DE MELLO CASTANHO AMBONI (UFSC), ELANE SCHWINDEN PRUDÊNCIO (UFSC); recebeu o prêmio sbCTA-PR de Incentivo à Pesquisa Renato João Sossela de Freitas – 2º LUGAR GERAL no XIII Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos, realizado no período de 14 a 16 de outubro de 2015, na UFPR – campus Centro Politécnico, em Curitiba – PR.

Curitiba, 16 de outubro de 2015

Realização



Organização



Apoio

Institucional



Tecnologia



Ministério da Educação



Profª Drª Renata Erlund de Freitas Macedo
Coordenadora da Comissão Científica do XIII ERSCTA

Profª Drª Sônia Cachoeira Stertz
Coordenadora Geral do XIII ERSCTA

Prof. Dr. Rupércio Alvares Cançado
Presidente do XIII ERSCTA

Stertz

Freitas